

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Giessen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch,
Prof. Dr. G. Schütterle

DER EINFLUSS VON GLUKOKORTIKOIDEN UND VON PHYTOHÄMAGGLUTININ AUF DIE LYMPHATISCHEN ZELLEN DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereiches Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von
Dieter Kaiser

aus Aschaffenburg

Giessen 1972

Aus den Medizinischen Kliniken und Polikliniken
der Justus Liebig-Universität Giessen

Direktoren:

Prof. Dr. H. J. Dengler, Prof. Dr. H. G. Lasch,

Prof. Dr. G. Schütterle

DER EINFLUSS VON GLUKOKORTIKOIDEN UND VON PHYTOHÄMAGGLUTININ AUF DIE LYMPHATISCHEN ZELLEN DER RATTE

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades

des Bereiches Humanmedizin

der Justus Liebig-Universität Giessen

vorgelegt von

Dieter Kaiser

aus Aschaffenburg

Giessen 1972

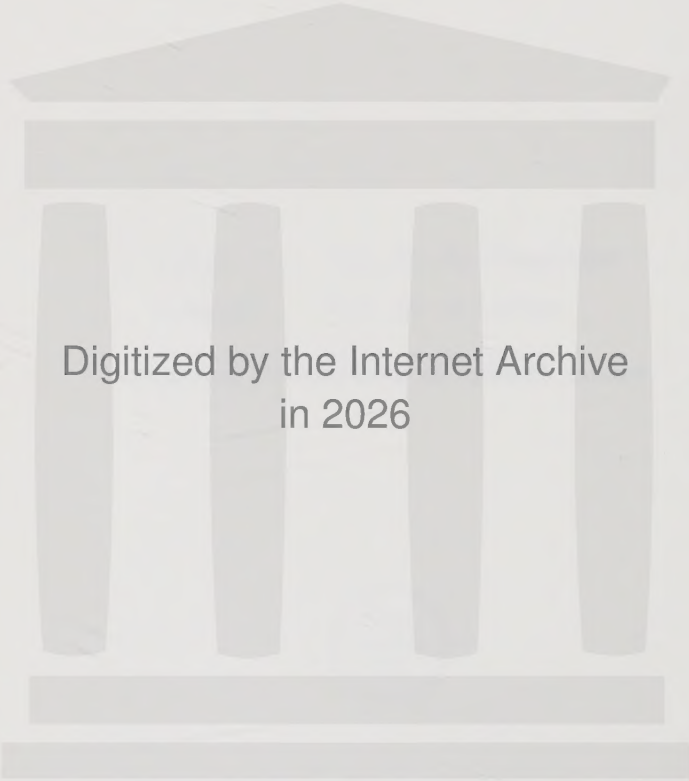
Dekan: Prof. Dr. Hj. Staudinger

Referent: Prof. Dr. H. Löffler

Korreferent: Prof. Dr. H. Ebner



Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Inhaltsverzeichnis.

1. Einleitung
 - 1.1 Das Lymphozytenproblem
 - 1.2 Fragestellung der Arbeit
2. Methodik
 - 2.1 Wahl der Versuchstiere
 - 2.2 Verwendete Substanzen
 - 2.3 Dosierung der Substanzen
 - 2.4 Applikationsart
 - 2.5 Technik der Blutentnahme
 - 2.6 Leukozytenzählung
 - 2.7 Zytochemische Methoden
 - 2.8 Statistische Methodik
3. Eigene Untersuchungen
 - 3.1 Vorversuche
 - 3.2 Vergleich der lymphoklastischen Wirkung von Dexamethason und Prednisolon
 - 3.2.1 Experimente
 - 3.2.2 Statistische Auswertung
 - 3.3.1 Die Beeinflussung der peripheren Lymphozytenzahl durch Phytohämagglutinin (PHA)
 - 3.3.2 Wechselwirkung zwischen PHA und Dexamethason auf die Blutlymphozytenzahl
 - 3.3.3 Statistische Auswertung
 - 3.4 Verhalten der Esterase positiven und der Esterase negativen Lymphozyten unter:
 - 3.4.1 Dexamethason
 - 3.4.2 Phytohämagglutinin
 - 3.4.3 Phytohämagglutinin und Dexamethason
 - 3.4.4 Statistische Auswertung
 - 3.5 Untersuchungen zur PAS-Reaktion der Lymphozyten unter:
 - 3.5.1 Dexamethason
 - 3.5.2 Phytohämagglutinin
 - 3.5.3 Phytohämagglutinin und Dexamethason

4. Diskussion
5. Zusammenfassung
6. Literaturverzeichnis

1. EINLEITUNG

1.1 Das Lymphozytenproblem.

Der Lymphozyt ist morphologisch recht gut charakterisiert. Er gehört zu den mononukleären Zellen und ist durch eine hohe Kern-Plasma-Relation ausgezeichnet. Zytochemische Untersuchungen haben gezeigt, daß - ähnlich wie bei den Monozyten - der DNA-Gehalt des Kerns besonders groß ist (1). Zudem enthält der Kern wenigstens einen Nukleolus. Damit gehört der Lymphozyt wie auch der Monozyt und die Blutplasmazelle zu den potentiell teilungsfähigen Zellen des Blutes (2,3). Wie die tiefrote Anfärbung mit Pyronin erkennen läßt, hat das Lymphozytenzytoplasma einen hohen RNA-Gehalt im Vergleich mit anderen ruhenden Zellen des Körpers. Färberisch läßt sich der Lymphozyt ebenfalls gut von den anderen Blutzellen abgrenzen:

- a) er ist peroxydasen negativ (1),
- b) mit der Färbemethode nach Altmann-Schridde (Anilinwasser-Säurefuchsinlösung) lassen sich stäbchenförmige Einschlüsse nachweisen (1),
- c) die Neutralrotfärbung (Renault-Dubreuil) erlaubt den Nachweis von Granula, die allerdings auch in Monozyten, Plasmazellen und Makrophagen vorkommen.

Weiterhin ist nach Hansen (1) die Lymphozytenmotilität so weitgehend charakteristisch, daß sie zur Abgrenzung von den morphologisch ähnlichen Myeloblasten und Monozyten verwendet werden kann.

Elektronenoptische Untersuchungen lassen im Kern wenigstens einen Nukleolus und im Zytoplasma Mitochondrien, Paladesche Granula sowie ein Endoplasmatisches Retikulum erkennen (4).

Über den Fermentgehalt der Lymphozyten ist bekannt, daß sie nur in geringer Aktivität Hydrolasen, glykolytische Enzyme und zumindest die reifen Lymphozyten keine Proteasen besitzen (5,6).

Bis vor kurzem wurden die Lymphozyten als eine homogene Zellpopulation im tierischen Organismus angesehen (9), deren Morphologie funktionsabhängig ist (10). In den letzten Jahren wurde immer deutlicher, daß es sich um eine heterogene Population handelt (9). Viele Autoren vermeiden deshalb die Bezeichnung Lymphozyt und sprechen unverbindlich von der "mononukleären Zelle" (11).

Die Lymphozyten lassen sich an Hand folgender Kriterien unterscheiden:

- a) der Lebensdauer (es gibt kurz- und langlebige Lymphozyten) (12,13),
- b) des zentralen oder peripheren Ursprungs (Thymus-Bursa (14,15) bzw. Thymus-Tonsillen, Peyersche Plaques (16)).
- c) des unterschiedlichen Lebensweges der Lymphozyten aus verschiedenen Organen (17),
- d) der physikalischen Trennung der Lymphozyten durch einen Gradienten (18),
- e) der Differenzierung auf der Basis der Antwort auf Phytohämagglutinin (19) und Antigene (20),
- f) der Anzahl der Nukleolen im Kern (21,22,44),
- g) mittels der zytoenzymatischen Darstellung der unspezifischen Esterase (24,25),
- h) mittels der PAS-Reaktion (2,26),
- i) nach der Zellgröße und der Kern-Plasma-Relation (1,10).

An der Heterogenität der Blutlymphozyten kann somit kein Zweifel sein. Unklar bleibt, ob und wie diese nach verschiedenen Gesichtspunkten durchgeführten Gruppierungen untereinander korreliert sind.

Zur Funktion der Lymphozyten bestehen heute folgende Vorstellungen:

- a) eine blutbildende Funktion, die von Maximow als erstem angenommen wurde (29), 1948 von Rosin u.a. (43) noch einmal angesprochen wurde, und heute vor allem von Yoffee vertreten wird.
- b) die Aufrechterhaltung der Immunität (11).
- c) die Umwandlung in Monozyten und Zellen des Bindegewebes.

Für die Klinik gewann die Beziehung zwischen dem lymphatischen Gewebe und den Nebennierenhormonen besondere Bedeutung.

Addison (39) erkannte diese Beziehung wohl als erster. Dougherty und White veröffentlichten 1943 (40) dazu einen ersten experimentellen Beitrag. Später erfolgte eine Reihe therapeutischer Versuche bei proliferativen Erkrankungen des lymphatischen Gewebes.

1944 behandelten Murphy und Sturm (44) die transplantable Rattenleukämie mit adrenotropem Hormon und konnten eine rasche Rückbildung der Tumoren erzielen. 1949 berichteten Pearson und Mitarbeiter (8) über ermutigende Erfolge bei der chronischen lymphatischen Leukämie des Menschen. In fortführenden Studien konnte gezeigt werden (69), daß bei der lymphatischen Leukämie unter Glukokortikoidbehandlung ähnliche Veränderungen im lymphatischen Gewebe nachweisbar sind wie beim Gesunden: eine Ausschwemmung von lymphatischen Zellen aus den Bildungsstätten in das Blut, sowie ein bestimmter Grad von Lymphozytolyse mit Phagozytose von Lymphozytenentrümmern (41).

Auch heute haben die Glukokortikoide ihren festen Platz in der Behandlung krankhafter Prozesse und Reaktionen des lymphatischen Gewebes.

1.2 Fragestellung der Arbeit.

Es erscheint somit gerechtfertigt und aktuell, die lymphoklastische Wirkung der Glukokortikoide zum zentralen Thema einer Dissertation zu wählen.

Die Fragestellung der vorliegenden Arbeit war:

- a) einen Vergleich der lymphoklastischen Wirkung von Dexamethason und Prednisolon durchzuführen,
- b) die Beeinflussung der peripheren Lymphozytenzahl durch PHA zu untersuchen,
- c) herauszufinden, ob eine Wechselwirkung zwischen der Lymphozytosewirkung des PHA und der lymphoklastischen Wirkung des Dexamethason besteht,
- d) das Verhalten der esterasepositiven und der esterassenegativen Lymphozyten zu untersuchen unter
 - da) der Einwirkung von Dexamethason,
 - db) der Einwirkung von PHA,
 - dc) der Einwirkung von PHA und Dexamethason gemeinsam,
- e) zytochemische Veränderungen der Lymphozyten anhand der PAS-Reaktion zu untersuchen bei
 - ea) Einwirkung von Dexamethason,
 - eb) Einwirkung von PHA,
 - ec) Gemeinsamer Einwirkung von PHA und Dexamethason.

2. Methodik

2.1 Wahl der Versuchstiere.

In der vorliegenden Arbeit wurden weiße männliche Ratten als Versuchstiere verwendet, die etwa 200 g schwer waren und unter üblichen Tierstallbedingungen gehalten wurden. Wir entschieden uns für diese Tiere, weil sie leicht in größerer Zahl zu halten sind und mehrere, in kurzen Zeitabständen erfolgende Blutentnahmen, relativ gut tolerieren. Zudem wurde die Ratte von anderen Autoren bei Arbeiten ähnlicher Thematik häufiger verwendet, so daß gerade für dieses Tier ein breites Vergleichsmaterial vorliegt. Da nach van Haelst (48) Unterschiede in der Reaktion auf Glukokortikoide zwischen den beiden Geschlechtern zu erwarten sind, benutzten wir nur männliche Tiere. Diese wurden zufällig auf die einzelnen Versuchsgruppen verteilt.

2.2 Verwendete Substanzen.

Verwendet wurden:

- a) Solu-Decortin H Merck: ein Prednisolon-Natriumsuccinat, das in Aqua bidest. gelöst wird,
- b) Fortecortin: ein Dexamethason-21-orthophosphat,
- c) Phytohämagglutinin (PHA) (52): ein Bacto-Phytohämagglutinin P (Difco-Laboratories Detroit, Michigan USA), das im Kühlschrank bei $2-10^{\circ}\text{C}$ aufbewahrt wurde und unmittelbar vor dem Gebrauch mit steriler Aqua dest.-Lösung in Lösung gebracht wurde. PHA ist ein Extrakt aus einer Art der Phaseolus vulgaris. Die Wirksubstanz ist wahrscheinlich ein Glykoprotein. PHA enthält drei biologisch aktive Prinzipien (49,52):
 - ein Erythrozyten agglutinierendes,
 - ein Serumprotein und menschliches Zellhomogenisat präzipitierendes,
 - ein Mitose induzierendes Prinzip.

2.3 Dosierung der Substanzen.

In Anlehnung an Grundmann (22), Van Haelst (48), Frenkel und Haverkill (47) und Schelin und Lundin (50) wurde Prednisolon mit 50 mg/kg so hoch dosiert, daß ein sicherer Effekt auf das periphere Blutbild erwartet werden konnte. Dexamethason wurde in einer Äquivalenzdosis injiziert, die einer Äquivalenztabelle von H. Kaiser (51) entnommen ist. In einer zweiten Versuchsserie wurden die Dosen auf die Hälfte reduziert.

PHA wurde entsprechend den Angaben der Hersteller verdünnt und zwei Milliliter dieser Lösung injiziert.

2.4 Applikationsart.

Prednisolon und Dexamethason wurden subkutan gegeben. Frenkel und Haverkill (47) geben an, daß Cortisonacetat bei intraperitonealer Gabe und auch bei peroraler Applikation ungefähr 1 / 50 so effektiv ist wie bei subkutaner oder intramuskulärer Gabe.

PHA wurde intraperitoneal injiziert.

2.5 Technik der Blutentnahme.

Die Tiere wurden durch Ätherinhalation narkotisiert. Venenblut wurde durch stückweise Amputation des Schwanzes gewonnen.

Injektionen und Blutentnahmen erfolgten jeweils zu gleichen Tageszeiten. Tageszeitliche Schwankungen der Blutzellzahl spielen deshalb bei der Auswertung der Ergebnisse keine Rolle.

2.6 Leukozytenzählung.

Die Zählung der Leukozyten erfolgte in der üblichen Weise nach Verdünnung mit 3% iger Essigsäure in der Leukozytenpipette und Verwendung der Thoma-Zeiss-Zählkammer. Der Berechnung der Lymphozytenzahl wurde der in der Kammer gefundene Wert in Verbindung mit den Ergebnissen eines nach Pappenheim gefärbten Ausstriches zugrunde gelegt.

2.7 Folgende zytochemische Methoden wurden angewendet:

- a) Nachweis der alpha-Naphthylacetat-Esterase nach der von Löffler (24,67) angegebenen Methode:
Dünne, luftgetrocknete Ausstriche wurden 4 min. in Formoldampf fixiert, in Leitungswasser gespült und luftgetrocknet.
Sie wurden danach in ein Inkubationsgemisch aus A und B gebracht. Die Inkubationszeit betrug 60 min.
- A: 1 Tropfen (0,05 ml einer 4% igen Na-nitritlösung) wurde mit einem Tropfen einer 4% igen Pararosanilinlösung in 2n HCl) ca. 1 min vermischt und dann mit 5 ml 0,2 molarem Phosphatpuffer (pH: 7,0 - 7,1) verdünnt.
- B: 10 mg alpha-Naphthylacetat wurden in 0,2 - 0,3 ml chemisch reinem Aceton gelöst und unter kräftigem Rühren 20 ml 0,2 molarer Phosphatpuffer (pH 7,0 - 7,1) zugegeben.
A wurde zu B gegeben und danach filtriert.
- Die Ausstriche wurden anschließend in Leitungswasser gewaschen, ca. 8 min. in Hämalaun nach Mayer gefärbt und in Leitungswasser 15 min gebläut.
- b) Die Perjodsäure-Schiff-Reaktion (PAS) von Hotchkiss (82): (Modifikation nach Quaglino und Hayhoe (30):
Die Ausstriche wurden 4-5 min. in Formoldampf fixiert, 15 min. in Leitungswasser gewaschen und danach folgendem Färbegang unterzogen:
- A) für 5 - 10 min. in 1% ige Perjodsäure, die immer frisch angesetzt wurde, eingestellt,
B) danach in Aqua dest gewaschen, das wenigstens zweimal gewechselt wurde.
C) Anschließend wurden die Ausstriche bei Zimmertemperatur und abgedunkelt 30 min in Schiff's Reagens inkubiert,
D) 2 - 3 min in Sulfitwasser (wechseln) gespült,
E) und 5 min. in Aqua dest. (wechseln) gewaschen.
F) Die Kernfärbung erfolgte in Hämalaun für 8 min. das Bläuen 20 min lang in Leitungswasser.

Beide Färbungen spielen eine wichtige Rolle bei der Typisierung der unreifzelligen Leukosen (42,57,80). Außerdem erlauben beide Methoden eine Differenzierung normaler menschlicher Lymphozyten in eine -positive und- negative Gruppe.(25,56).

Wir haben uns bemüht, die Lymphozyten bei der Ausdifferenzierung von den anderen Rundzellen des Blutes, insbesondere den Monozyten zu trennen. Da es aber unter PHA zu einer Ausschwemmung jugendlicher Zellen aus den lymphatischen Geweben kommt, wird eine exakte und sichere Unterscheidung von den Monozyten sehr unsicher. Wir glauben aber, daß hierdurch entstandene Fehler vernachlässigt werden können: Etwa 75% der Blutleukozyten der Ratte sind Lymphozyten (53) Der eventuell fälschlich zu den Lymphozyten gezählte Anteil an anderen Rundzellen fällt damit kaum ins Gewicht,

2.8 Statistische Methodik.

Zur statistischen Auswertung der Ergebnisse wurden folgende Berechnungen angestellt:

a) Ermittlung des arithmetischen Mittels.

Man erhält es, indem man die Summe der Werte der Einzelbeobachtungen durch die Anzahl der Beobachtungen dividiert.

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum x_i}{n}$$

b) Berechnung der Standardabweichung und der Varianz

Die Varianz ist das Quadrat der Standardabweichung.

$$s^2 = \frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}$$

Die Standardabweichung gibt an, wie stark die Einzelwerte um den Mittelpunkt streuen. Sie ist definiert als die Quadratwurzel des Quotienten: Summe

der Abweichungsquadrate / Anzahl der Freiheitsgrade.

$$s = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

c) Die Varianzanalyse.

Sie erlaubt erstens den Vergleich von mehr als zwei Mittelwerten, zweitens den Einfluß von zwei oder mehreren gleichzeitig auf ein Merkmal einwirkenden Faktoren zu analysieren. Bei unserer Versuchsanordnung war das partiell-hierarchische Modell zu wählen. Die Berechnung des F -wertes erlaubt die Prüfung auf Signifikanz. Es wurde in allen Gruppen ein Signifikanzniveau von $p = 0,01$ gefordert.

d) Der Tukey-Test (62).

zur Prüfung von Mittelwertunterschieden auf Signifikanz.

e) Der zweiseitige Vorzeichentest von Dixon und Mood ebenfalls zur Prüfung von Mittelwertsunterschieden auf Signifikanz.(63).

In den Tabellen, Diagrammen und statistischen Berechnungen wurde mit Prozentzahlen gearbeitet. Auf eine Wiedergabe der absoluten Lymphozytenwerte wurde verzichtet; denn die Leukozyten sind zwar individuell recht konstant können aber von Tier zu Tier um den Faktor 4 - 5 differieren. Eine Aufzeichnung in den Diagrammen mit den ursprünglichen Werten wäre nur auf Kosten der Übersichtlichkeit zu erkaufen.

3. Eigene Versuche.

3.1 Vorversuche.

In Vorversuchen wurde der Zeitpunkt der maximalen Blutlymphopenie ermittelt und das Verhalten der Lymphozytenzahl über 24 Stunden beobachtet. Es wurden hierzu 2 Gruppen zu je 2 Tieren gebildet, wobei die Zuteilung zu einer Gruppe zufällig erfolgte. Jedes Tier wog etwa 200 g. Die Gruppe A (Tiere 1 und 2) wurde mit 10 mg Prednisolon, Gruppe B (Tiere 3 und 4) mit 2 mg Dexamethason behandelt. Blutbildkontrollen erfolgten zum Zeitpunkt der Injektion der Substanz, nach 3 Stunden 6 Stunden, 9 Stunden, 12 Stunden, 15 Stunden, 21 Stunden und 24 Stunden. Die zeitliche Änderung der Blutlymphozytenzahl ist in Abbildung 1 dargestellt. Es geht daraus hervor, daß die stärkste Lymphozytendepression zwischen der 9. und der 15. Stunde nach der Injektion liegt. 24 Stunden nach Behandlungsbeginn sind die Lymphozyten schon wieder auf 60% des Ausgangswertes angestiegen. Diese Reaktion wurde bei allen Versuchstieren beobachtet.

3.2 Vergleich der Lymphoklastischen Wirkung von Dexamethason und Prednisolon.

3.2.1 Die in der folgenden Versuchsserie gestellte Aufgabe war, einen statistischen Vergleich zwischen der lymphoklastischen des Dexamethason und des Prednisolons durchzuführen. Es kam hierbei entscheidend darauf an, festzustellen, ob beide Substanzen nach der gleichen Einwirkungszeit einen gleichen maximalen Effekt im Sinne der Lymphoklasie verursachen. Wir konnten - wegen der im Vorversuch gewonnenen Information - die Anzahl der Blutentnahmen reduzieren und die Versuchszeit auf 14 bzw. 12 Stunden (Zeitpunkt des maximalen Effekts) abkürzen.

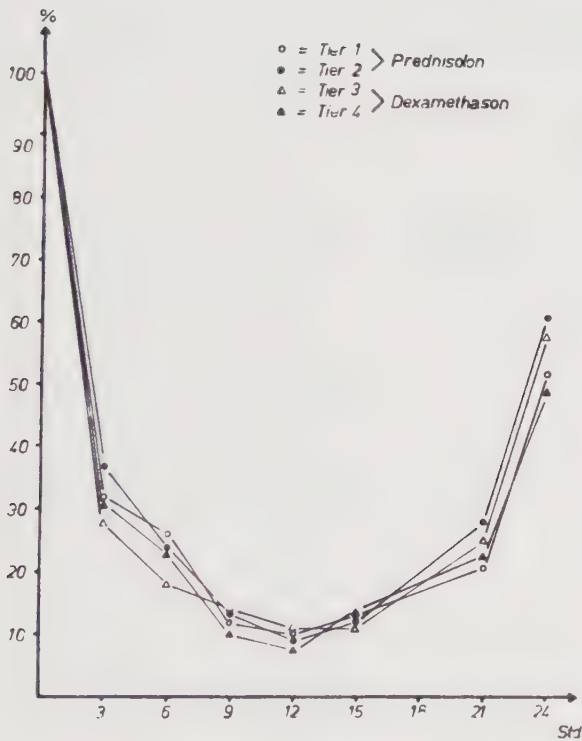


Abbildung 1:

Verhalten der Lymphozyten unter Prednisolon (Tiere 1 und 2) und Dexamethason (Tiere 3 und 4). Festlegung des ungefähren Zeitpunktes der maximalen Lymphopenie und des Verlaufes über 24 Std.

Auf eine Ausdehnung der Versuchszeit in die "Reparationszeit" haben wir verzichtet. Diese Phase ist nämlich im wesentlichen durch die individuelle Reaktionsbereitschaft des lymphatischen Gewebes und die Geschwindigkeit charakterisiert, mit der die Wirksubstanz durch den Organismus "eliminiert" wird. Diese Phase ist also nicht primär durch den Einfluß der Wirksubstanz geprägt. Die Versuchsanordnung geht aus folgender Tabelle hervor:

Gruppe	Anzahl der Tiere	Behandlung	Blutkontrollen Stundenzahl	Tabelle
1	10	2 mg Dexamethason	0, 6, 8, 10, 12, 14.	1
2	5	10 mg Prednisolon	0, 6, 8, 10, 12, 14.	2
3	10	1 mg Dexamethason	0, 6, 12.	3
4	10	5 mg Prednisolon	0, 12.	4
5	10	1 ml 0,9 %ige NaCl	0, 6, 12.	5

Die Zahl 0 in der Tabelle bedeutet: zum Zeitpunkt der Injektion.

Zeit	6	8	10	12	14 Std.
Tier					
1	23,0	24,0	11,0	9,0	8,0
2	26,5	19,2	8,6	8,3	8,6
3	34,0	17,9	13,5	10,0	13,0
4	20,0	15,6	11,0	9,6	10,3
5	20,8	18,2	10,3	9,3	9,8
6	22,8	20,0	12,3	9,8	10,6
7	24,9	22,5	15,6	9,8	9,7
8	29,8	21,5	18,1	13,6	15,3
9	24,6	19,9	16,1	12,0	10,7
10	25,6	18,7	15,0	9,6	11,4
$\bar{x}$	25.2000	19.7500	13.1500	10.1000	10.7400
s^2	17.5444	5.9138	9.0605	2.4044	4.5114
s	4.1886	2.4318	3.0100	1.5506	2.1240

Tabelle 1:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach subkutaner
Injektion von 2 mg Dexamethason.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Zeit	6	8	10	12	14 Std.
Tier					
1	22,6	19,1	13,1	9,1	9,6
2	33,8	24,6	13,7	12,3	13,5
3	32,8	20,0	12,2	10,6	12,9
4	32,1	26,6	13,1	9,8	10,1
5	39,2	16,4	10,0	8,2	8,8
$\bar{x}$	32.1000	21.3400	12.4200	10.0000	10.9880
s^2	36.0100	17.3780	2.1170	2.4350	4.3237
s	6.0008	4.1686	1.4549	1.5604	2.0793

Tabelle 2:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach subkutaner
Injektion von 10 mg Prednisolon.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Zeit	6	12 Stunden
Tier		
1	25,0	17,0
2	21,8	11,8
3	13,8	12,0
4	14,5	10,0
5	39,0	16,0
6	35,0	7,8
7	26,0	10,0
8	22,0	6,5
9	35,5	12,4
10	36,5	12,8
$\bar{x}$	26.8900	11.6300
s^2	83.8387	10.7067
s	9.1563	3.2721

Tabelle 3:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach subkutaner
Injektion von 1 mg Dexamethason.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Zeit	12 Stunden
Tier	
1	10,7
2	9,3
3	8,8
4	9,8
5	8,9
6	11,0
7	8,7
8	9,2
9	9,3
10	8,5
$\bar{x}$	9.4200
s^2	0.7084
s	0.8416

Tabelle 4:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach subkutaner
Injektion von 5 mg Prednisolon.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Die Tabellen enthalten außer der Lymphozytenzahl in
prozentualer Angabe den arithmetischen Mittelwert ($\bar{x}$),
die Varianz (s^2) und die Standardabweichung (s).

Zeit	6	12 Stunden
Tier		
1	93,2	99,0
2	101,0	105,0
3	103,0	106,0
4	94,0	104,0
5	102,0	112,0
6	92,0	97,0
7	97,0	97,0
8	98,0	101,0
9	104,0	105,0
10	105,0	107,0
$\bar{x}$	98.9200	103.3000
s^2	22.5084	22.9444
s	4.7443	4.7673

Tabelle 5:

Kontrollgruppe: Das Verhalten der Blutlymphozyten nach subkutaner Injektion von 1 ml physiologischer Kochsalzlösung. (Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

3.2.2. Abbildung 2 ist als Schaubild zu den Tabellen 1 (Dexamethasonbehandlung) und 2 (Prednisolonbehandlung) gedacht. Da es bei der statistischen Auswertung auf eine Verlaufsbeurteilung ankommt, dient Abbildung 2 auch zur graphischen Dokumentation der statistischen Berechnung.

Aus dem gleichen Grunde bringen wir die Abbildungen 3 und 4.

Die statistische Berechnung zu den Gruppen 1 und 2 erfolgte mittels der zweifachen Varianzanalyse. Da die Tiere der Dexamethasongruppe nicht identisch sind mit den Tieren der Prednisolonbehandlung, wählen wir das partiell-hierarchische Modell. Es wurde die Hypothese aufgestellt, daß die beiden Behandlungen einen unterschiedlichen Effekt haben.(vgl. Abb.2).

Es bedeuten:

A = Zeit

B_c = Tiere innerhalb der Behandlung

C = Behandlung

AC= Wechselwirkung Zeit : Behandlung

AB_c = Rest.

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
AB _c	359.9796	52	6.9226
AC	129.5116	4	32.3779
A	3 302.6368	4	825.6592
B _c	247.4514	13	19.0347
C	39.4241	1	39.4241

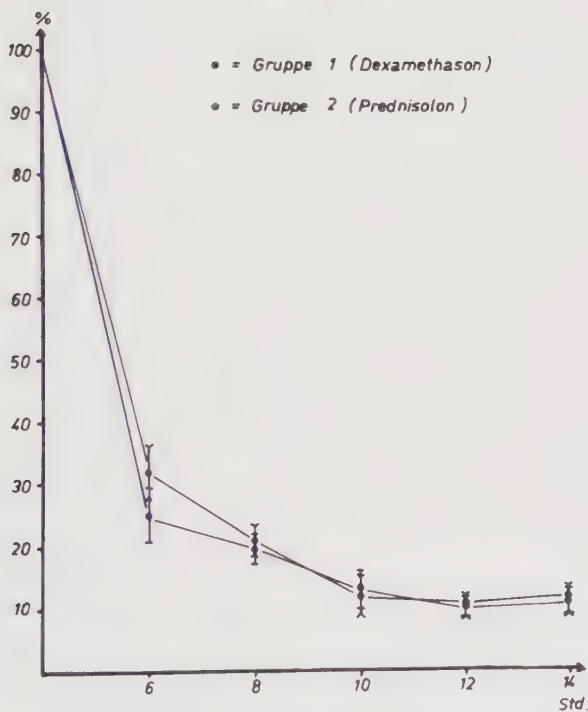


Abbildung 2:

Das Verhalten der Lymphozyten unter Dexamethason
und Prednisolon.

(2 mg Dexamethason, 10 mg Prednisolon.)

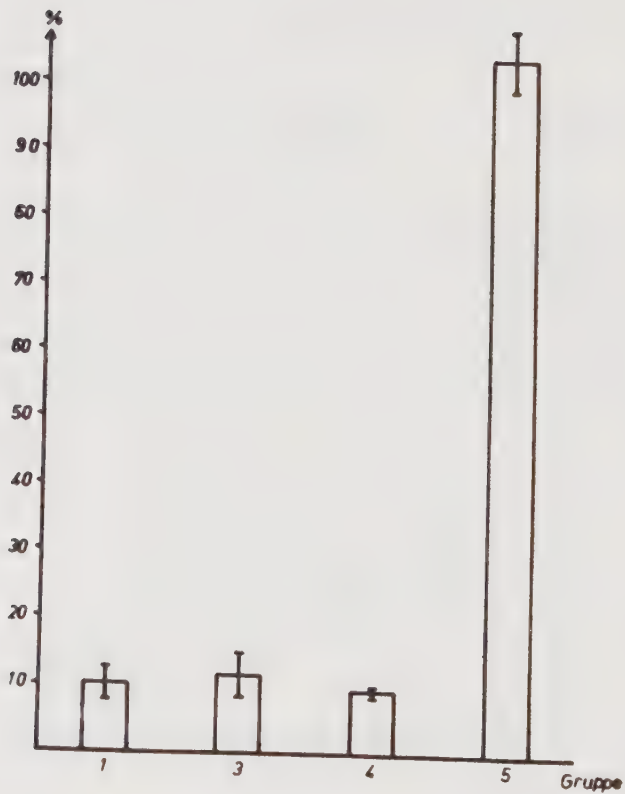


Abbildung 3:

Vergleich der Blutlymphozytenzahl 12 Stunden
nach Versuchsbeginn:

Gruppe 1 = 2 mg Dexamethason

Gruppe 3 = 1 mg Dexamethason

Gruppe 4 = 5 mg Dexamethason

Gruppe 5 = 1 ml Physiologische Kochsalzlösung

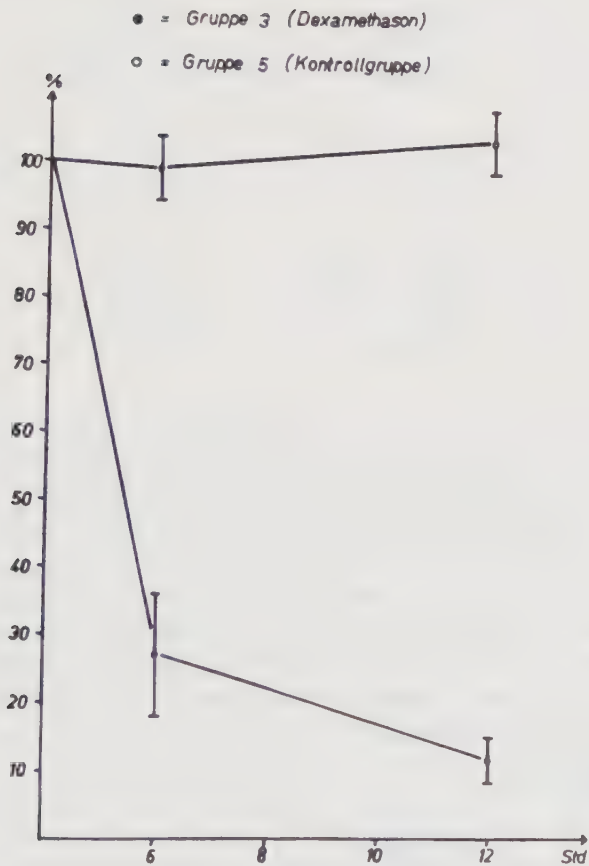


Abbildung 4:

Das Verhalten der Lymphozyten unter Dexamethason
und physiologischer Kochsalzlösung.

(1 mg Dexamethason)

Berechnung des F-Wertes:

$$F_{AC} = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{Rest}} = 4,66 \quad \text{signifikant}$$

$F_{\theta} = \frac{MAQ_C}{MAQ_{B_C}} = 2,06 \quad \text{nicht signifikant}$
--

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{Rest}} = 119,4 \quad \text{signifikant}$$

Damit ist die Hypothese zu verwerfen. Die Unterschiede der beiden Behandlungen sind zufälliger Natur. Wie zu erwarten sind signifikant: der Einfluß der Zeit und die Wirkung Zeit x Behandlung.

Aus der Abbildung 4 geht der lymphoklastische Effekt des Dexamethason bereits eindeutig hervor. Dennoch führten wir auch hier eine Prüfung auf Signifikanz durch. Methode: dreifache Varianzanalyse, partiell-hierarchisches Modell.

Es bedeuten:

- A = Zeit
- B = Tiere
- C = Behandlungen

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
A(C)	964.3240	1	964.3240
AB(C)	407.9000	18	22.6611
B	295.9360	1	295.9360
B(C)	851.6860	18	47.3158
C	66 994.2250	1	66 994.2250

Berechnung des F-Wertes:

$$F_C = \frac{MAQ_C}{MAQ_{B_C}} = 1412,00 \quad \text{signifikant}$$

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB(C)}} = 13,04 \quad \text{signifikant}$$

$$F_C = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{AB(C)}} = 42,10 \quad \text{signifikant}$$

Mit der geforderten Sicherheit ($S = 99$) ist damit der lymphoklastische Effekt des Dexamethason gesichert.

In der Abbildung 3 geht es um einen Vergleich der lymphoklastischen Wirkung von 2 mg und 1 mg Dexamethason und 5 mg Prednisolon untereinander sowie mit der Kontrollgruppe zum Zeitpunkt 12 Stunden nach der Substanzapplikation. Die Behandlungsgruppe 2 (mit 10 mg Prednisolon) wurde dabei nicht mitbetrachtet. Sie umfaßt nur 5 Versuchstiere, die übrigen Gruppen aber 10 Tiere, was die statistische Auswertung wesentlich erschwert hätte. Dies läßt sich rechtfertigen; denn die Angaben, die zur Gruppe 1 (2 mg Dexamethason) im folgenden statistischen Test gefunden werden, gelten auch für Gruppe 2 (10 mg Prednisolon), da ein Unterschied im Behandlungserfolg beider Gruppen auf dem Signifikanzniveau von $p = 0,01$ bereits ausgeschlossen ist. (vergl.S.18 und Abb.2).

Wir führten eine zweifache Varianzanalyse durch, und mußten- wie in den vorausgegangenen Berechnungen- das partiell hierarchische Modell wählen.

Es bedeuten:

A = Tiere
B = Behandlungen

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
Rest	333.6771	36	9.2500
A	91.2163	9	10.1351
B	64 683.1768	3	21 561.0589
AB	242.4608	27	8.9800

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB}} = 1,13 \quad \text{nicht signifikant}$$

$F_B = \frac{MAQ_B}{MAQ_{AB}} = 2\,412,14 \quad \text{signifikant}$

Der Unterschied zwischen den Behandlungen ist damit statistisch gesichert. Die Frage, zwischen welchen Behandlungen ein signifikanter Unterschied besteht, wurde an Hand des Tukey-Testes beantwortet.

Schema der Mittelwertsdifferenzen:

	$\bar{x}_a$	$\bar{x}_c$	$\bar{x}_d$	$\bar{x}_e$
$\bar{x}_c$	1,53	0	0,68	<u>91,67</u>
$\bar{x}_d$	0,68	2,21	0	<u>93,88</u>
$\bar{x}_e$	<u>93,20</u>	<u>91,67</u>	<u>93,88</u>	0

Ein Vergleich dieser Mittelwertsdifferenzen mit der Zahl 4,5267 zeigt:

Es besteht ein signifikanter Unterschied sämtlicher Glukokortikoidbehandlungsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe mit physiologischer Kochsalzlösung. Die Kortikoidbehandlungsgruppen untereinander zeigen keinen statistisch gesicherten Unterschied.

Es bedeuten:

- | | | |
|---|---|--|
| a | = | Behandlungsgruppe 1 (2 mg Dexamethason) |
| c | = | Behandlungsgruppe 3 (1 mg Dexamethason) |
| d | = | Behandlungsgruppe 4 (5 mg Prednisolon) |
| e | = | Behandlungsgruppe 5 (Kontrollgruppe) |

3.1 In einem weiteren Versuch untersuchten wir den Einfluß des Phytohämagglutinin (PHA) auf die Blutlymphozytenzahl der Ratte. Es wurden dazu 5 Tiere (Gruppe 6) mit PHA-Lösung (2 ml) behandelt. Die Blutbildkontrollen erfolgten am Beginn der Behandlung, nach 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 und 48 Stunden. Die Befunde sind in der Tabelle 6 zusammengestellt. (vergl. auch Abb.5)

3.2 Eine weitere Gruppe von 5 Tieren (Gruppe 7) wurde mit PHA und Dexamethason gemeinsam behandelt. Die Dexamethasoninjektion erfolgte dabei 24 Stunden nach der PHA-Injektion, d.h. nach Versuchsbeginn. Wie in der Gruppe 6 erfolgte dabei die Blutbildkontrolle in 6-stündigem Abstand vom Versuchsbeginn bis zur 48 igsten Stunde. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 7 zusammengetragen.

In der Kontrollgruppe 8 wurden 5 Tiere mit physiologischer Kochsalzlösung (1 ml) nach dem Schema der Gruppe 7 behandelt. Die erste Injektion erfolgte zu Versuchsbeginn, die zweite 24 Stunden später. Da physiologische Kochsalzlösung bekanntlich keinen Einfluß auf die Lymphozyten hat, kann Gruppe 8 auch als Kontrollversuch zur alleinigen PHA-Behandlung (Gruppe 6) gelten: Tabelle 8.

Zeit	6	12	18	24	30	36	42	48 St
Tier								
1	38,0	38,0	43,0	61,0	80,0	159,0	133,0	147,0
2	21,0	22,0	38,0	57,0	124,0	180,0	138,0	150,0
3	13,0	12,0	14,0	35,0	61,0	123,0	108,0	105,0
4	31,0	42,0	53,0	72,0	88,0	152,0	109,0	88,0
5	47,6	45,0	37,0	77,0	103,0	169,0	121,0	111,0
$\bar{x}$	30.12	31.80	37.08	60.40	91.20	156.60	121.80	120.20
s^2	186.17	201.20	205.73	266.80	565.70	464.30	159.70	739.70
s	13.64	14.18	14.34	13.33	23.78	21.54	13.62	27.19

Tabelle 6:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach intraperitonealer
Injektion von 2 ml PHA.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

t	6	12	18	24	30	36	42	48 Std.
er								
	51,0	28,0	28,0	26,0	17,0	8,0	13,6	26,6
	37,0	29,0	22,0	64,5	24,0	10,4	10,6	25,6
	30,0	24,6	55,7	80,0	42,0	7,8	30,0	60,0
	31,0	29,0	76,1	83,0	18,4	7,6	8,8	14,0
	25,0	33,5	38,8	50,0	24,0	9,5	14,4	22,1
	34.80	28.82	44.16	60.70	25.16	8.80	15.48	29.70
2	100.20	10.11	481.36	550.70	98.04	1.37	70.99	310.63
	10.00	3.17	21.93	23.46	9.90	1.17	8.42	17.62

belle 7:

as Verhalten der Blutlymphozyten nach gleichzeitiger
 ehandlung mit PHA und Dexamethason. Die Dexamethason-
 njektion erfolgte dabei 24 Stunden nach der PHA-Injektion.
 Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Zeit	6	12	18	24	30	36	42	48	s
Tier									
1	86,0	85,0	100,0	100,0	104,0	100,0	94,0	92,0	
2	90,0	86,0	100,0	98,0	106,0	97,0	97,0	102,0	
3	107,0	103,0	95,0	98,4	116,0	98,4	105,0	111,0	
4	91,0	104,0	91,0	106,0	99,0	102,0	96,0	93,0	
5	94,4	94,0	106,0	99,0	100,5	87,0	98,8	100,0	
$\bar{x}$	93.68	94.40	98.40	100.48	105.10	96.88	98.16	99.80	
s^2	64.41	81.30	32.30	17.15	44.80	33.97	17.62	59.70	
s	8.02	9.01	5.68	4.14	6.69	5.82	4.19	7.72	

Tabelle 8:

Das Verhalten der Blutlymphozyten nach Injektion von physiologischer Kochsalzlösung zum Zeitpunkt des Versuchbeginns sowie 24 Stunden später.

(Kontrollversuch; Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

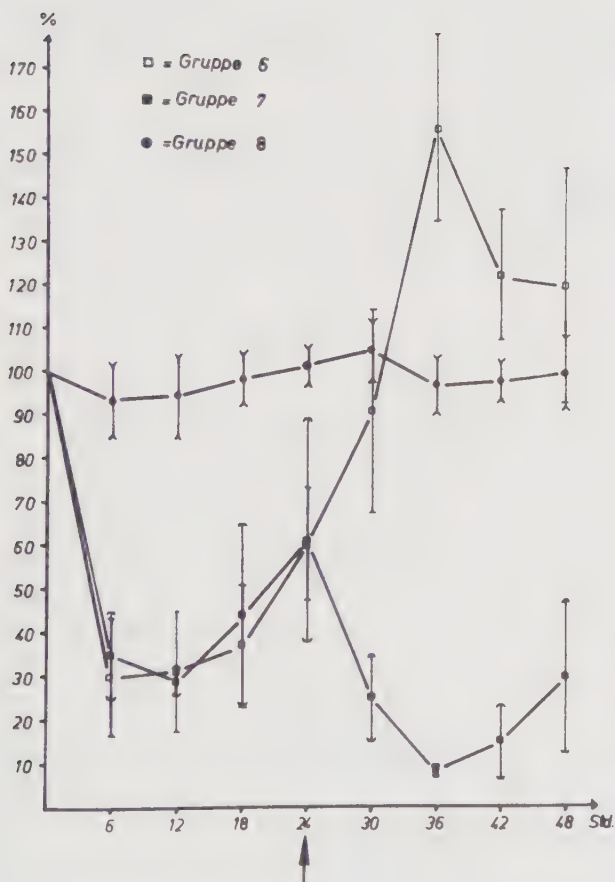


Abbildung 5:

Das Verhalten der Lymphozyten unter PHA, PHA und Dexamethason sowie unter Physiologischer Kochsalzlösung.

(2 ml PHA, 2 ml Dexamethason, 1 ml NaCl)

3.3.3. Der statistischen Berechnung wurde die Hypothese vorausgestellt, daß der Lymphozytose-Effekt des PHA durch Dexamethason unterdrückt werden kann. Es geht also um einen Vergleich der Tabellen 6, 7, und 8. Sie werden im Diagramm 5 gemeinsam zur Darstellung gebracht.

Die statistische Berechnung erfolgte mittels der dreifachen Varianzanalyse und dem partiell-hierarchischen Modell.

Es bedeuten:

- A = Zeit
- B = Tiere
- C = Behandlung

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
AB_C	11 829,93	84	140,83
AC	71 904,29	14	5 136,02
A	19 716,29	7	2 816,61
B_C	7 330,02	12	610,83
C	98 418,05	2	49 209,02

Berechnung des F-Wertes:

$$F_C = \frac{MAQ_C}{MAQ_{B(C)}} = 80,5 \quad \text{signifikant}$$

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB(C)}} = 19,0 \quad \text{signifikant}$$

$$F_{AC} = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{AB(C)}} = 36,5 \quad \text{signifikant}$$

Auf dem Signifikanzniveau: $p = 0,01$ ist damit der Einfluß der Zeit, der Unterschied der Behandlungen und die Wechselwirkung Zeit x Behandlung gesichert.

Die Frage nach dem Unterschied zwischen den Behandlungen wurde mit dem "Zweiseitigen Vorzeichentest" gelöst. (Tabelle 9).

- 3.4. Mit der Esterase-Reaktion (alpha-Naphthylacetat als Substrat) konnten wir bei der Ratte 2(zwei)Gruppen von Lymphozyten unterscheiden: Etwa 90 ($\pm 3,4$) % sind esterasepositiv, die restlichen 10 ($\pm 3,4$) % sind esterasesnegativ.

Es wurde untersucht, wie diese beiden Gruppen sich unter Dexamethason (als Vertreter der Glukokortikoide) unter PHA, sowie unter gleichzeitiger Einwirkung von PHA und Dexamethason verhalten. Ein Vergleich dieser beiden Gruppen (der esterasepositiven und der esterasesnegativen Lymphozyten) war nur möglich, wenn der jeweilige Ausgangswert zu Versuchsbeginn mit 100% angenommen wurde. Es wurden dabei Blutaussstriche von 5 Tieren der Gruppe 1, von allen Tieren der Gruppen 6 und 7 angefertigt und mit ihnen einmal die Esterase-Reaktion, zum anderen die PAS-Reaktion ausgeführt. (wegen der PAS-Reaktion siehe später).

- 3.4.1 Die Ergebnisse der Dexamethasonbehandlung sind für die esterasepositiven Zellen in der Tabelle 10, für die esterasesnegativen Zellen in der Tabelle 11 dargestellt. Abbildung 6 zeigt die dazugehörigen Verlaufskurven.

- 3.4.2 Die Tabellen 12 und 13 zeigen das Verhalten der esterasepositiven und der esterasesnegativen Lymphozyten nach intraperitonealer Gabe von PHA. Vergleiche Abbildung 7.

- 3.4.3 Die Behandlungsergebnisse unter PHA und Dexamethason sind für die esterasepositiven Zellen in Tabelle 14, für die esterasesnegativen Zellen in Tabelle 15 zusammengestellt. Vergleiche Abbildung 8.

Vergleich	PHA PHA/+Dexamethason	PHA / NaCl	PHA +Dexamethason/NaCl
Zeit (Stunden)			
6	nicht signifikant	signifikant	signifikant
12	nicht signifikant	signifikant	signifikant
18	nicht signifikant	signifikant	signifikant
24	nicht signifikant	signifikant	signifikant
30	signifikant	signifikant	signifikant
36	signifikant	signifikant	signifikant
42	signifikant	signifikant	signifikant
48	signifikant	signifikant	signifikant

Tabelle 9:

Zum zweiseitigen Vorzeichentest.

Prüfung auf Signifikanz des Unterschiedes.

Aus Tabelle 9 geht hervor, daß Dexamethason den PHA- induzierten zeitlichen Lymphozytenverlauf signifikant beeinflußt.

Zeit	6	12 Stunden
Tier		
1	29,0	9,7
2	29,0	9,5
3	40,8	14,3
4	22,4	11,1
5	22,1	9,8
6	24,6	10,7
$\bar{x}$	27,98	10,85
s^2	48,71	3,24
s	6,97	1,80

Tabelle 10:

Das Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten nach subkutaner Injektion von 2 mg Dexamethason.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Anmerkung:

Bei der statistischen Berechnung wurde Tier 4 nicht berücksichtigt. Es wurde nach dem Gesetz des Zufalls ausgeschieden.

Zeit	6	12 Stunden
Tier		
1	2,5	0
2	6,7	0
3	0	0
4	3,7	0
5	0	0
6	4,9	0
$\bar{x}$	2,96	0
s^2	7,20	0
s	2,68	0

Tabelle 11:

Das Verhalten der esterasenegativen Lymphozyten unter Dexamethason (2mg).

(Angabe in Prozenten des Ausgangswertes.)

Anmerkung:

Tier 4 wurde bei der Berechnung nicht berücksichtigt.
Vgl. Anmerkung auf Seite 34.

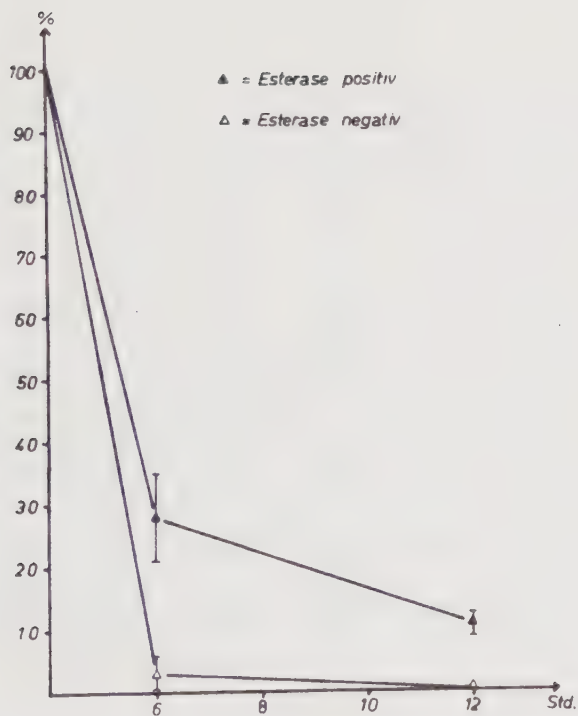


Abbildung 6:

Das Verhalten der esterasepositiven und der
esterasenegativen Lymphozyten unter Dexamethason.
(2 ml Dexamethason)

Zeit 6 12 18 24 30 36 42 48 Std

Tier									
1	38,10	39,40	35,10	53,20	69,90	144,00	136,20	144,10	
2	20,40	19,10	36,80	49,70	120,30	174,00	133,00	152,00	
3	12,20	10,40	9,80	36,10	61,40	126,00	100,50	103,00	
4	31,00	36,00	48,50	76,10	88,00	154,00	98,00	81,50	
5	46,00	43,80	36,60	76,80	95,50	167,00	113,00	107,00	
$\bar{x}$	29,66	29,74	33,36	58,38	87,02	153,00	116,14	117,52	
s^2	187,64	204,35	202,41	312,96	532,47	362,00	317,45	878,57	
s	13,69	14,29	14,22	17,69	23,07	19,02	17,81	29,64	

Tabelle 12:

Das Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten unter PHA.
(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

t	6	12	18	24	30	36	42	48 Std.
r								
	45,00	25,00	156,00	172,00	242,00	400,00	87,00	200,00
	27,50	60,00	66,00	72,00	163,00	300,00	217,00	123,00
	18,00	20,00	38,00	28,00	57,70	100,00	156,00	122,40
	34,10	92,00	90,00	40,00	87,00	142,00	198,00	143,00
	62,50	67,50	100,00	75,00	222,00	200,00	252,00	163,00
	37.42	52.90	90.00	97.56	154.34	228.40	182.00	150.28
	293.25	913.30	1934.00	4908.16	6552.78	14832.80	4020.50	1052.09
	17.12	30.22	43.98	70.60	80.95	121.79	63.41	32.44

belle 13:

as Verhalten der esterasenegativen Lymphozyten unter PHA.
Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

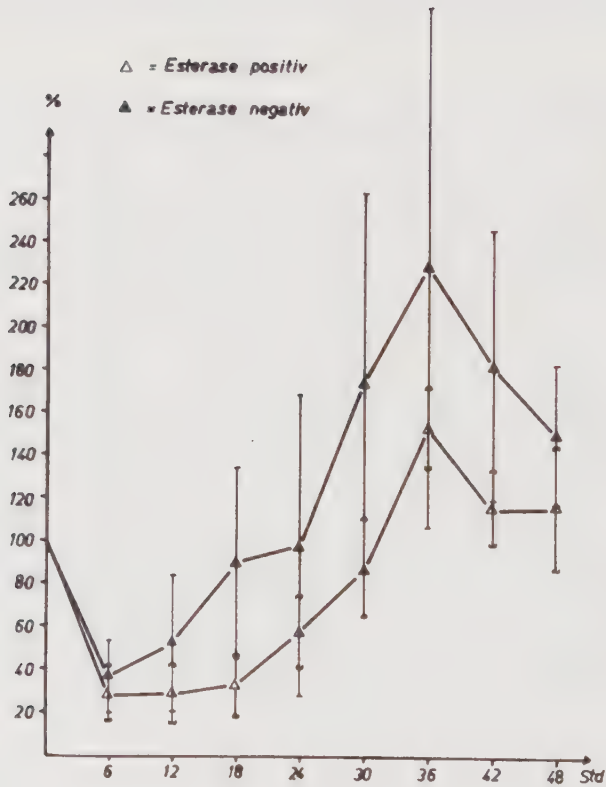


Abbildung 7:

Das Verhalten der esterasepositiven und der
esterasenegativen Lymphozyten unter PHA.
(2 ml PHA)

Zeit	6	12	18	24	30	36	42	48 Std.
er								
1	48,30	27,50	28,40	25,20	18,40	9,10	13,70	25,20
2	36,60	26,50	20,20	67,30	24,40	10,40	11,30	24,80
3	29,20	24,90	51,50	77,60	41,10	7,30	28,10	53,90
4	28,40	28,60	72,70	79,50	18,60	7,80	8,60	12,70
5	24,70	30,80	30,60	41,30	21,50	9,00	14,00	20,20
6	33.44	27.66	40.68	58.18	24.80	8.72	15.14	27.36
7	87.64	4.93	453.55	571.87	89.04	1.48	57.21	245.44
8	9.36	2.22	21.30	23.91	9.44	1.22	7.56	15.67

Abbildung 14:

Das Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten unter PHA und Dexamethason.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

Zeit	6	12	18	24	30	36	42	48	Std
Tier									
1	63,60	31,80	23,30	29,50	11,30	6,20	14,80	34,30	
2	37,00	24,00	20,00	40,00	19,00	10,40	5,20	33,60	
3	38,40	19,20	11,50	115,00	49,00	12,10	55,70	131,00	
4	61,40	64,40	127,50	138,50	15,90	5,00	10,70	38,20	
5	24,20	59,50	122,00	130,00	50,50	13,60	17,30	64,00	
$\bar{x}$	44.92	39.78	80.86	90.60	29.14	9.46	20.74	60.22	
s^2	288.77	432.81	2955.92	2683.93	361.76	13.88	402.90	1722.36	
s	16.99	20.90	54.37	51.81	19.02	3.73	20.07	41.50	

Tabelle 15:

Das Verhalten der esterasenegativen Lymphozyten unter PHA und Dexamethason.

(Angaben in Prozenten des Ausgangswertes.)

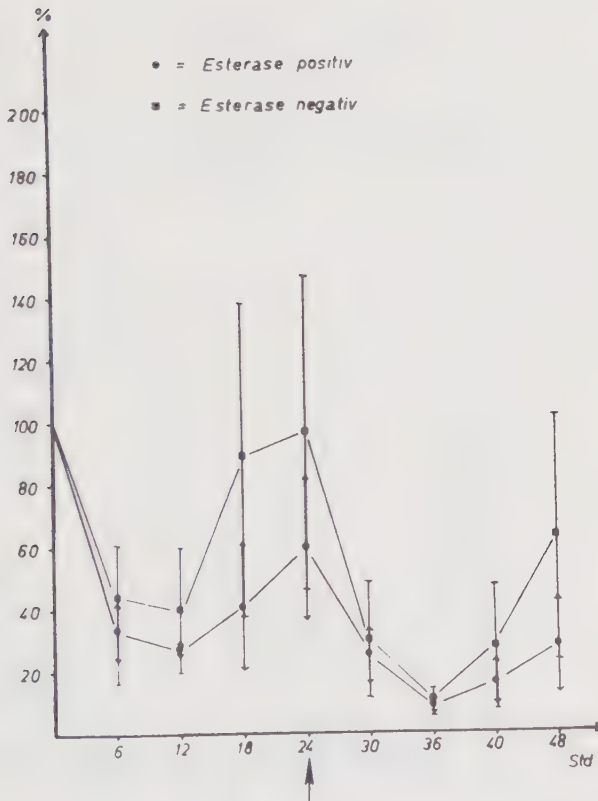


Abbildung 8:

Das Verhalten der esterasepositiven und der
esterasenegativen Lymphozyten unter PHA und
Dexamethason.

(2 ml PHA, 2 mg Dexamethason)

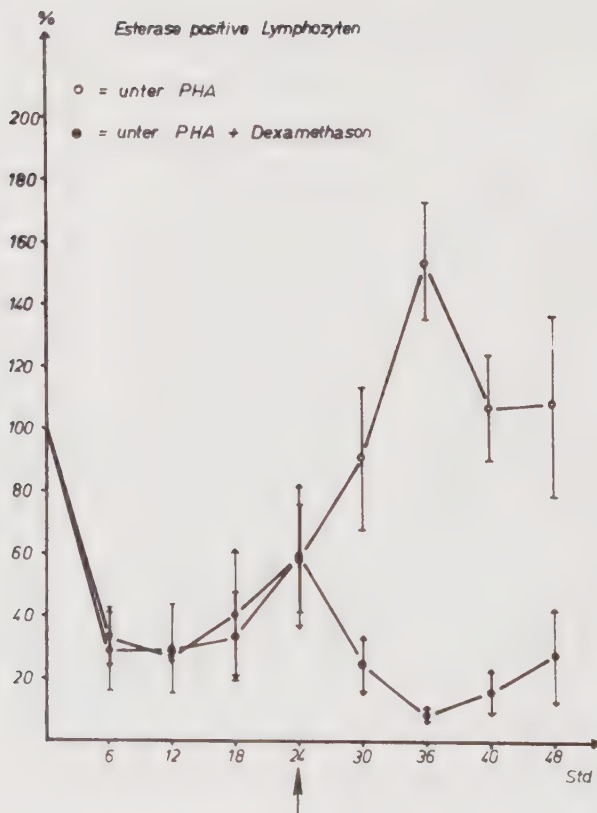


Abbildung 9:

Das Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten
unter PHA und unter PHA und Dexamethason.

(2 ml PHA, 2 mg Dexamethason)

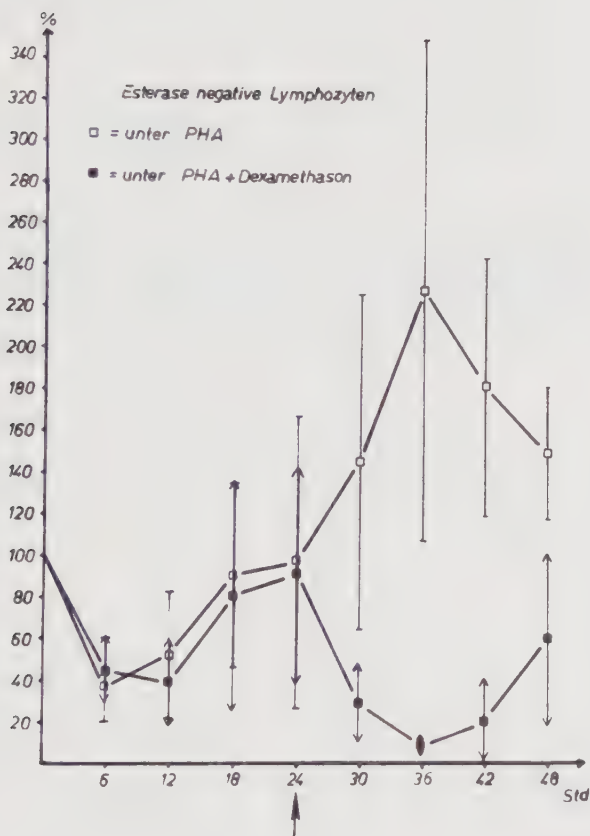


Abbildung 10:

Das Verhalten der esterasenegativen Lymphozyten
unter PHA und unter PHA und Dexamethason.
(2 ml PHA, 2 mg Dexamethason)

Abbildung 9 stellt den Verlauf der esterasepositiven Blutlymphozyten unter erstens PHA und zweitens PHA und Dexamethason dar. Das Verhalten der esterasenegativen Lymphozyten unter den gleichen Bedingungen wird in Abbildung 10 gezeigt.

3.4.4 Zur statistischen Berechnung benutzten wir die dreifache Varianzanalyse und das partiell-hierarchische Modell.

Es wurde die Hypothese aufgestellt: Die esterasepositiven Lymphozyten verhalten sich unter der Behandlung anders als die esterasenegativen Lymphozyten.

Es bedeuten in den folgenden Berechnungen:

A = Zeit
E = Tiere
C = Esterase-Reaktion

Zur Gruppe mit Dexamethasonbehandlung:

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
AB_C	100,95	10	10,09
AC	301,04	1	301,04
A	606,01	1	606,01
B_C	194,88	10	19,48
C	1 929,62	1	1 929,62

Berechnung des F-Wertes:

$F_C = \frac{MAQ_G}{MAQ_{B_C}} = 99,3 \quad \text{signifikant}$

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB_C}} = 60,6 \quad \text{signifikant}$$

$$F_{AC} = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{AB_C}} = 30,1 \quad \text{signifikant}$$

Auf dem Signifikanzniveau von $S = 99$ ist damit ein unterschiedliches Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten gegenüber den esterassenegativen Lymphozyten unter Dexamethason bewiesen.

Zur Gruppe mit PHA-Behandlung:

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
AB_C	97 176,94	56	1 735,30
AC	10 067,45	7	1 438,20
A	220 247,22	7	31 463,88
BC	12 904,38	4	3 226,09
C	42 430,47	1	42 430,47

Berechnung des F-Wertes:

$F_C = \frac{MAQ_C}{MAQ_{B_C}} = 6,4 \quad \text{nicht signifikant}$
--

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB_C}} = 18,1 \quad \text{signifikant}$$

$$F_{AC} = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{AB_C}} = 0,83 \quad \text{nicht signifikant}$$

Im Falle der PHA-Behandlung ließ sich damit der Einfluß der Zeit auf den zeitlichen Verlauf der Lymphozyten sichern. Das Verhalten der esterasepositiven Lymphozyten und der esterasenegativen Lymphozyten unter PHA ist hingegen nicht signifikant verschieden.

Zur Gruppe mit PHA und Dexamethason:

Einflußgrößen	SAQ	FG	MAQ
AB_C	27 195,78	56	485,63
AC	4 101,29	7	585,90
A	32 581,50	77	4 654,50
B_C	14 157,68	8	1 769,71
C	6 049,98	1	6 049,98

Berechnung des F-Wertes:

$F_C = \frac{MAQ_C}{MAQ_{B_C}} = 3,4 \quad \text{nicht signifikant}$
--

$$F_A = \frac{MAQ_A}{MAQ_{AB_C}} = 9,6 \quad \text{signifikant}$$

$$F_{AC} = \frac{MAQ_{AC}}{MAQ_{AB_C}} = 1,2 \quad \text{nicht signifikant}$$

Wie bei alleiniger PHA-Einwirkung läßt sich im Falle gleichzeitiger Einwirkung von PHA und Dexamethason auf dem geforderten Signifikanzniveau kein signifikant unterschiedliches Verhalten der esterasepositiven und der esterasenegativen Lymphozyten finden. Der Einfluß der Zeit auf beide Gruppen hingegen ist signifikant.

Da aus der Abbildung 9 eindeutig abzulesen ist, daß ab der 24. Versuchsstunde ein differenter Verlauf der esterasepositiven Lymphozyten in der PHA-Behandlungsgruppe und der PHA-Dexamethason-Behandlungsgruppe vorliegt, wurde auf eine rechnerische Signifikanzprüfung verzichtet. Gleiches gilt für die esterasenegativen Lymphozyten und die Abbildung 10.

3.5 Mit der PAS-Reaktion gelang es nicht, bei der Ratte 2 Gruppen von Lymphozyten (positive und negative) zu unterscheiden. Sämtliche Rundzellen waren negativ. Dieses Verhalten änderte sich nicht unter dem Einfluß von Dexamethason, PHA und PHA gemeinsam mit Dexamethason.

Wir hatten diese zytochemische Reaktion aus zwei Gründen angewendet:

- 1) In Blutausstrichen gesunder Menschen, bei lymphatischer Leukämie und reaktiven Lymphozytosen gelingt es, mittels der PAS-Reaktion 2 Gruppen von Lymphozyten (eine PAS-positive und eine PAS-negative) zu trennen. (56).
- 2) Die PAS-Reaktion hat große Bedeutung für die Zytochemie der akuten Leukosen. Granuläre PAS-Positivität gilt dabei als Indiz für Abstammung vom lymphatischen Gewebe. Diese Leukose-Form (PAS.Typ) spricht gut auf Kortikoide an. (42, 57, 71, 104).

4. Diskussion

In der vorliegenden Arbeit diente die seit Dougherty und White (46) tierexperimentell gewonnene Erkenntnis der lymphoklastischen Wirkung der Glukokortikoide als Grundlage für den Vergleich von Dexamethason und Prednisolon. Sowohl nach Dexamethason als auch nach Prednisolon kam es zu einer Blutlymphopenie. Wir fanden für beide Substanzen ein Effektmaximum etwa nach 12 Stunden. 24 Stunden nach Versuchsbeginn waren die Lymphozyten wieder auf ca. 60 % ihres Ausgangswertes angestiegen. Im statistischen Vergleich beider Behandlungsgruppen ließ sich ein gleicher zeitlicher Verlauf der Lymphozytenzahl über 12 Stunden sichern. Allerdings gilt diese Aussage mit letzter Strenge nur für die Behandlungsgruppe mit 2 mg Dexamethason und 10 mg Prednisolon. Da aber der 12-Stundenwert der Behandlungen mit 1 mg Dexamethason und 5 mg Prednisolon keinen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber den vorgenannten Behandlungen aufweist, darf diese Aussage erweitert werden. Es muß aber darauf hingewiesen werden, daß die von uns gewählten Dosen das therapeutisch übliche Maß erheblich überschreiten. Exakterweise hätten 2 Versuchsserien (mit Prednisolon und Dexamethason) mit fallenden Dosen bis auf einen unteren Grenzwert fortgeführt werden müssen. Da aber andererseits unsichere Faktoren mitspielen: verschiedene Resorptionsgröße der Substanzen, Individualdisposition des Versuchstieres u.a., die einen echten quantitativen Vergleich in Frage stellen, haben wir uns auf die genannten Dosen beschränkt. Unser Ergebnis wollen wir so formulieren: In hoher Dosierung und unter Berücksichtigung der Äquivalenz haben Dexamethason und Prednisolon bei der Ratte einen gleichen lymphoklastischen Effekt. Vergleichen wir unsere Befunde mit den Ergebnissen von Dougherty und White, so finden wir erhebliche Unterschiede im Verhalten der Blutlymphozytenzahl. Nach Gabe von 5 mg

ACTH kam es bei Dougherty und White nach 9 Stunden und nach Gabe von 2 ml wasserlöslichem NNR-Extrakt nach 3 Stunden zu einem maximalen lymphopenischen Effekt. Allerdings -und das soll als Kritik gelten- bestand hierbei eine absteigende Tendenz von 3 über 6 nach 9 Stunden. Danach wurde erst wieder der 24-Stundenwert kontrolliert. Der Zeitpunkt der maximalen Blutlymphopenie könnte also durchaus auch zwischen dem 9-Stundenwert und dem 24-Stundenwert liegen.

Der verzögerte lymphopenische Effekt in unseren Versuchen kann Folge einer verzögerten Resorption der von uns benutzten Substanz sein. Die stärkere Lymphopenie in unseren Versuchen dürfte durch die höhere Dosierung bedingt sein. Zur Frage des Zustandekommens der Lymphopenie werden diskutiert: eine primäre Lymphozytolyse, eine verminderte Lymphozytenneueildung mit verminderter Lymphozytenausschüttung aus den Bildungsstätten. Die Hinweise auf eine Lymphozytolyse sind so zahlreich und überzeugend, daß kein berechtigter Zweifel daran aufkommen kann. Wir fanden im peripheren Ausstrich bereits 3 Stunden nach der Glukokortikoidgabe Lymphozyten mit pyknotischem Kern und anderen degenerativen Stigmata. 10 Stunden später war dieses Phänomen nicht mehr zu sehen. Wie es zur Zytolyse kommt, ist noch unklar. Sie könnte Folge eines direkten toxischen Effektes auf die Lymphozyten sein, und z.B. über eine Störung des Membranstoffwechsels zustande kommen. Die Lymphozytolyse wurde auch bei der histologischen Untersuchung lymphatischer Organe von mit Glukokortikoiden behandelten Tieren gefunden. Lundin und Schelin (50) beschreiben zytolytische Veränderungen der Thymozyten mit Kernödem, Kernpyknose und Auflösung der Kern und Zellmembran. Sie sahen diesen Effekt bereits nach 2 Stunden, deutlich nach 12 Stunden. Grundmann (73) schreibt, daß die primäre Lymphozytolyse im lymphatischen Gewebe schon 3 Stunden nach Injektion beginnt, nach 6 - 10 Stunden ein Maximum erreicht und 24 - 48 Stunden später nicht mehr gefunden wird. Bevorzugt würden die kleinen Lymphozyten zerstört werden.

Auch in vitro kommt es unter Glukokortikoideiwirkung zum Zelluntergang, wie Van Haelst (48) , Frenkel (47) u.a. berichten. Daß die Glukokortikoide nicht nur zu einer Zytolyse führen, sondern auch die Mitoserate senken, ließ sich von verschiedenen Autoren beweisen. Aus "in vitro -Experimenten" ist bekannt, daß die Glukokortikoide zu einer Hemmung der DNA-Vermehrung (74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 86) und einer Minderung der RNA-Synthese (77, 78, 81, 86) führen. Diese Hemmung könnte zustande kommen über eine direkte Wechselwirkung der Glukokortikoide mit der DNA, wie bei Experimenten mit isolierter DNA (86) gezeigt wurde. Dieser Mechanismus scheint jedenfalls verantwortlich für die erniedrigte RNA-Syntheserate. Wahrscheinlich spielen auch der verminderte Glukoseeintritt (83) in die Zelle und davon unabhängig der verminderte Nukleosideintritt eine entscheidende Rolle. Ein zusätzlicher Faktor dürfte die reduzierte Phosphorylierung von Nukleosiden und Nukleotiden sein (83). Daß die Glukokortikoide auch den zellulären Proteinstoffwechsel stören, konnte ebenfalls bewiesen werden. Es kommt zu einer verminderten Inkorporation von Aminosäuren in die Mikrosomen des Rattenthyms (84, 85). Das läßt sich sicherlich zum Teil über die Störung des Nukleinsäurestoffwechsels erklären. Ein zweiter Faktor dürfte die verminderte Energiebeschaffung bei mangelndem Glukoseeintritt in die Zelle sein.

Die Mitose-induzierende Wirkung des PHA ist in vitro sehr gut untersucht. Daß sie auch in vivo nachweisbar ist, berichten Machando (88), Bishun (89) und Gamble (90). Elves hingegen konnte diesen Effekt bei seinen Versuchen mit Ratten nicht bestätigen (91). Das kann durchaus an der besonderen von ihm gewählten Versuchsanordnung liegen. Elves fand nach wiederholten PHA-injektionen keinen proliferativen Effekt. Das läßt nicht unbedingt den Schluß zu, daß PHA keinen Mitose-induzierenden Effekt hat. Viel wahrscheinlicher ist, daß PHA -das antigene Eigenschaften hat- nach mehreren Applikationen durch Antikörper abgebunden wird und dann seinen Stimuluseffekt verliert.

Über Blutbildveränderungen, d.h. Veränderungen der Blutlymphozyten liegen unseres Wissens keine Untersuchungen vor. In unseren Versuchen kam es nach intraperitonealer Gabe von PHA zu einem vorübergehenden Abfall der Blutlymphozytenzahl. 36 Stunden nach der einmaligen Injektion waren die Lymphozyten wieder auf etwa $156 \% \pm 21 \%$ angestiegen, bezogen auf den Ausgangswert. Wie läßt sich dieser frühe Lymphozytensturz erklären? Er kann Folge der "Leukozyten-agglutinierenden" Eigenschaften des PHA sein. Dafür spricht, daß von diesem Sturz auch die Granulozyten betroffen sind, wie wir es bei unseren Versuchen fanden. Daneben muß aber auch ein toxischer Effekt des PHA diskutiert werden. Unterstellt man, daß die PHA-Injektion einen Streß darstellt, dann könnte die Lymphopenie auch Folge einer vermehrten Ausschüttung von NNR-Hormonen sein. In diesem Zusammenhang scheint uns die Fragestellung wichtig, daß in dieser Phase des Lymphozytenabfalls keine degenerativen Stigmata an den Lymphozyten im Ausstrich gefunden wurden. Damit darf zumindest vermutet werden, daß hier ein anderer Mechanismus als bei der Kortikoid-induzierten Lymphopenie zugrunde liegt. Weiteren Aufschluß könnten histologische Untersuchungen und Markierungstechniken bringen.

Auch der Lymphozytose-Effekt des PHA ist nicht eindeutig geklärt. Er könnte:

- Rebound-Effekt nach Lymphozytenabfall sein,
- über eine Mitosesteigerung und vermehrte Zellproduktion zustande kommen.

Für einen Rebound-Effekt fehlen weitere Hinweise. Insbesondere ist nicht erwiesen -soweit uns bekannt-, daß die Regulierung der Blutlymphozyten, im übrigen auch der anderen Blutzellsysteme nach den Mechanismen des Rückkopplungssystems funktioniert.

Da andererseits die Mitose-induzierende Wirkung des PHA nach in vitro-Untersuchungen nicht anzuzweifeln ist, glauben wir, daß diese Lymphozytose Resultat einer gesteigerten

Zellproduktion ist. Diese Vorstellung wird durch Literaturangaben gestützt, nach denen bei der Maus (88) unter PHA eine gesteigerte Mitoserate im lymphatischen Gewebe gefunden wird.

Wir fanden, daß es unter PHA bei der Ratte zu einer Vermehrung blastenartiger Lymphozyten kommt, die einen locker strukturierten Kern und ein weites blaßbasophiles Zytoplasma ohne Granulation aufweisen. Der Anteil dieses Zelltyps an der Blutlymphozytenzahl nimmt mit der Versuchsdauer immer mehr zu, während der anfangs vorhandene Lymphozytentyp mehr und mehr zurück tritt. Dieser "PHA-Lymphoblast" wurde in der Reparationsphase nach Dexamethason nicht gesehen. Man darf mit einigem Recht annehmen, daß er erst neu entstanden ist und nicht ausschwemmungsbereit in den lymphatischen Geweben lagerte.

Aus einer Reihe von in vitro Untersuchungen (92, 93, 94, 95, 96, 97) ist die proliferative Wirkung des PHA auf die Lymphozyten gut bekannt. Sie wird heute routinemäßig in Lymphozytenkulturen angewendet. Die Lymphozyten wandeln sich dabei in große blastenartige Zellen um, die einen locker strukturierten Kern, 1 - 4 Nukleoli und ein stark basophiles Plasma aufweisen (98). Dieser Zelltyp gleicht dem von uns gefundenen "PHA-Lymphoblasten". Die Kulturlymphozyten vermehren sich vom 2. Züchtungstag an rasch mitotisch mit einem Gipfel der Mitosetätigkeit um den 3. Tag (99). Zur Stimulation in vitro genügt eine Einwirkungszeit des PHA von mehreren Minuten bis wenigen Stunden (100). Anti-PHA-Serum blockiert den PHA-Effekt, wenn es bis zur 4. Stunde der Kultur zugesetzt wird (101). Biochemische Untersuchungen zeigten, daß es zu einer deutlichen Verminderung der RNA kommt, wenn die Kultur für wenigstens 30 Minuten der PHA-Einwirkung ausgesetzt ist (102). Diese anfängliche Abnahme der RNA geht dabei der PHA-Konzentration linear parallel. Sie könnte Folge einer gesteigerten RNase-Aktivität sein. Es muß aber auch an einen toxischen Effekt des PHA gedacht werden (101). Der RNA-Abnahme folgt eine

starke Zunahme, die wenigstens 24 Stunden andauert (102). Elektronenoptisch zeigt sich der RNA-Anstieg in einer Vermehrung der Ribosomen und des Endoplasmatischen Retikulums (102, 103, 104). Untersuchungen zur Natur der synthetisierten RNA ergaben, daß sowohl die ribosomale als auch die 4 s-RNA zunehmen. Der Syntheseanteil an 4 s-RNA ist dabei größer (101). Leider ist die Funktion der 4 s-RNA noch nicht bekannt. Auffällig ist, daß keine m-RNA nachgewiesen werden kann. Da die Histone in die Kontrolle der DNA-Transskription einbezogen sind, ist von Interesse, daß der Zunahme der RNA eine Abnahme der Histone folgt (101).

Es wurde gezeigt (107), daß niedrige Konzentrationen von Actinomycin in der Lage sind, die Synthese ribosomaler RNA besonders in stimulierten Lymphozyten zu verhindern. Aber auch bei einem völligen Unterbinden der RNA-Synthese bleibt immer noch eine substantielle Stimulation auf die Proteinsynthese nachweisbar. Es bleiben weiterhin typische morphologische Veränderungen bestehen; aber es kommt zu keiner DNA-Synthese und zu keiner Mitose. Demnach scheinen die RNA-Veränderungen unter PHA für die Proliferation unabdingbar.

Dem Anstieg der RNA folgt eine DNA-Synthese, die nach 24 Stunden beginnt und nach 2-3 Tagen ein Maximum erreicht (105).

4 Stunden nach Kulturbeginn findet man eine aktive Eiweißsynthese, wie durch Zusatz C^{14} -markierter Aminosäuren nachgewiesen werden kann (108). So ist z.B. eine gesteigerte DNA-Polymerase-Aktivität (109) nachzuweisen. Weiterhin kommt es zur Zunahme einer Reihe lysosomaler Enzyme (110), der sauren Beta-Glycerophosphatase, der sauren Phenolphthalainphosphatase, der Acrylsulfatase (110, 111, 112), der sauren Phosphatase (114), der Glukose-6-phosphatdehydrogenase und der alpha-Glykosidase (114). Außerdem kommt es zum Anstieg der GLDH-Aktivität (113) und der LDH-Aktivität (112).

Wie Untersuchungen mit Lymphozytenkulturen mit Hühnern zeigten, ist nach einer Thymektomie das Ausmaß der Lymphozyten-

transformation vermindert. Eine Bursektomie hingegen hat keinen Einfluß auf die PHA-Empfindlichkeit der Lymphozyten (115). Sowohl an "in vivo"-Untersuchungen als auch an "in vitro"-Experimenten wurde das gleiche Verhalten von Säugerlymphozyten bewiesen (117). Schwarz und Rieke (118) berichten, daß die kurzlebigen Lymphozyten der Ratte intensiver als die langlebigen auf PHA ansprechen.

Von einer Vielzahl anderer Substanzen u.a. Tuberkulin und P.P.D. (119, 120) ist bekannt, daß sie ebenfalls eine Lymphozytenstimulation in der Kultur auslösen. Da sie Antigencharakter haben, wurde auch von PHA angenommen, daß es über einen Antigen-Antikörper-Mechanismus wirke.

Dagegen spricht,

- daß PHA alle Lymphozyten einer Kultur stimuliert, (die oben genannten Substanzen mit Antigeneigenschaften dagegen nur einen mehr oder weniger großen Anteil der Lymphozyten).
- daß PHA schneller wirkt als diese antigenen Substanzen.

Offensichtlich ist der Mitose-erzeugende Faktor des PHA mit dem Leukozytenagglutinierenden identisch; denn nach Entfernen der Leukozyten-agglutinierenden Eigenschaft durch häufiges und wiederholtes Zusammenbringen mit Lymphozyten geht auch der Stimuluseffekt des PHA verloren (121).

Wenn auch viele Einzelheiten bekannt sind, die unter PHA in der Zelle geschehen, so gibt es zum Wirkungsmechanismus nur Hypothesen. Monjardino (101) z.B. diskutiert, daß PHA wirksam wird durch:

- Entfernung eines Repressors oder
- Aktivierung der m-RNA möglicherweise über eine Synthese der t-RNA.

Nachdem in unseren Versuchen feststand, daß unter PHA nach 36 Stunden ein maximaler Lymphozytoseeffekt auftritt, wurde geprüft, ob die Glukokortikoide diese Lymphozytose zu unterdrücken vermögen. Die beiden Behandlungen wurden hierzu so

phasenverschoben, daß ihr maximaler Effekt zeitlich zusammenfiel. Dabei ließ sich statistisch ein Unterschied zwischen der reinen PHA-Behandlung und der Behandlung mit PHA und Dexamethason auf dem Signifikanzniveau von $S=99\%$ sichern. Dexamethason unterdrückt demnach die PHA-Lymphozytose. Dieser Effekt kann zustande kommen:

- allein durch die periphere zytolytische Wirkung des Dexamethason,
- durch einen gegensätzlichen Effekt auf die Zellen in den lymphatischen Organen, also auf Mitose, Zellproliferation und zellausschüttung,
- durch die zwei oben genannten Mechanismen.

Dazu können wir auf Grund unserer Untersuchungen allein nicht Stellung nehmen. Es wären hierzu histologische und biochemische Zusatzuntersuchungen nötig. Außerdem könnte eine Versuchsanordnung weiterhelfen, bei der PHA und Fortecortin zu Versuchsbeginn gleichzeitig gegeben werden, da ja offensichtlich der Zeitfaktor eine ganz wesentliche Rolle spielt.

Nach in vitro-Untersuchungen ist 24 Stunden nach PHA-Zugabe die Proliferationswirkung durch Glukokortikoide nicht mehr zu hemmen (122). Andere Autoren (1007) sprechen von 10 Minuten. Unter der Voraussetzung, daß in vivo-Untersuchungen uneingeschränkt verglichen werden können, dürften wir also keinen Effekt des Dexamethason mehr erwarten. Daß er dennoch vorhanden ist beweist, daß in vivo ganz andere Gesetzmäßigkeiten gefunden werden als in vitro.

Für die von uns gefundene Wechselwirkung zwischen dem PHA und dem Dexamethason sprechen folgende biochemische Befunde: Unter PHA kommt es erst nach 24 Stunden zu einer meßbaren DNA-Syntheseleistung der Lymphozyten, nach 36 Stunden zu einem Maximum der DNA-Synthese. Diese Synthese setzt ein entsprechendes Angebot an Nukleosiden und Energieleistung voraus. Von den Glukokortikoiden ist aber bekannt, daß sie den Nukleosid- und den Glukoseeintritt, damit die Energiebildung, hemmen. Diese Effekte werden schon nach einer Zeit

von 2 Stunden gefunden.(80, 123, 124). Auf diesem Wege dürfte das Dexamethason den Lymphozytoseeffekt des PHA beeinflussen: über eine Verminderung der zellulären DNA-Syntheseleistung, damit der Mitose-tätigkeit. Ganz sicher wird Dexamethason auch noch seine zytolytische Wirkung entfalten. Wir haben keinen Anhalt dafür, daß PHA diesen Dexamethasoneinfluß verändern kann. In der folgenden Abbildung 11 ist festgehalten, daß der lymphopenische Effekt des Dexamethason unter PHA-"Schutz" geringer ist. Wir glauben, daß das im wesentlichen über die Interferenz beider Substanzen auf den DNA-Stoffwechsel zu erklären ist.

Bei der Ratte konnten wir - wie schon erwähnt - mit der Esterasefärbung ca. 90 % Esterase positive und ca. 10 % Esterase negative Lymphozyten unterscheiden. Da es unter den Glukokortikoiden nach 12 Stunden zu einer Blutlymphopenie von ca. 10 % des Ausgangswertes kam, lag der Gedanke nahe, daß nur die Esterase positiven Lymphozyten kortikoidempfindlich sind. Das konnten wir nicht bestätigen. Aber es zeigte sich und wurde statistisch gesichert, daß die Esterase negativen Lymphozyten auf die Glukokortikoide empfindlicher reagieren als die Esterase positiven. Es wäre unter diesem Gesichtspunkt durchaus sinnvoll, bei Neoplasien des lymphatischen Gewebes über die Esterasefärbung eine Typisierung durchzuführen und die Behandlungsergebnisse mit Glukokortikoiden aufzuschlüsseln. Zudem wäre es aufschlußreich, die von Grundmann gefundene Gruppierung in Follikel- und Sinuslymphozyten mit der Esterasetypisierung zu korrelieren, da auch diese beiden Gruppen eine unterschiedliche Kortikoidempfindlichkeit zeigen.

Unter PHA und PHA + Dexamethason lassen diese beiden Gruppen (Esterase-Reaktion) kein signifikant differentes Verhalten erkennen. Dieser Befund erstaunt, weil eine Zunahme lysosomaler Enzyme in PHA stimulierten Lymphozyten bekannt ist und auch die Esterase zumindest z.T. in Lysosomen lokalisiert ist. Man hätte deswegen unter PHA eine stärkere Zunahme der Esterase positiven Lymphozyten erwarten können.

Es erstaunt zudem, daß unter PHA - "Schutz" die Dexamethasonwirkung auf die Esterase positiven Zellen nicht stärker ist als auf die Esterase negativen, wie es unter Dexamethason allein beobachtet wurde. Wir haben keinen Hinweis, daß das durch eine Änderung des zytolytischen Dexamethasoneffektes unter PHA zustande kommt. Wir nehmen an, daß die Stoffwechselwirkung des Dexamethason unter gleichzeitiger Einwirkung des PHA anders gelagert ist.

Mit der PAS-Reaktion gelang es uns nicht, bei der Ratte zwei Gruppen von Lymphozyten zu unterscheiden. Die PAS-Negativität der Lymphozyten blieb unter Dexamethason, PHA und PHA + Dexamethason bestehen.

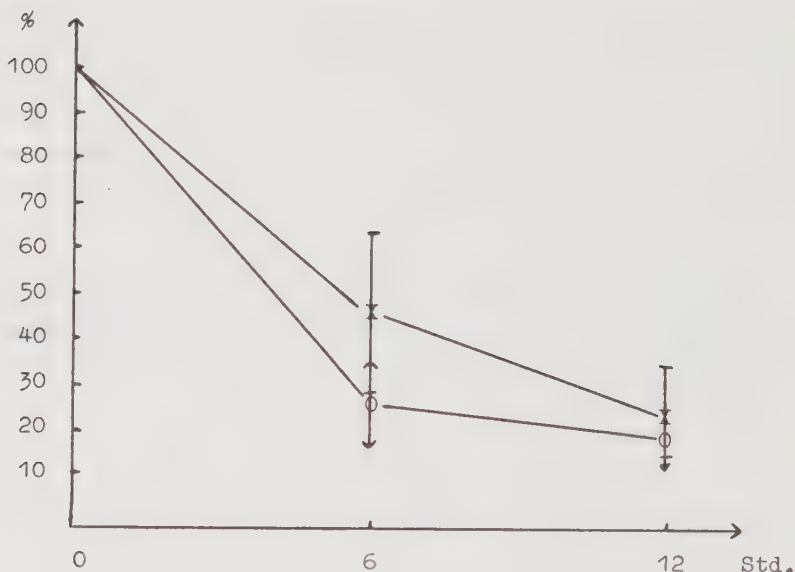


Abbildung 11 zeigt den Verlauf der Lymphozyten unter 2 mg Dexamethason (6 und 12 Stundenwert, vgl. Tabelle 1) und unter PHA + Dexamethason (30 und 36 Stundenwert, wobei: Angabe in Prozenten von 100 % = 24 Stundenwert, vgl. Tabelle 7). Mit dem t-Test läßt sich dabei der Unterschied beider Verläufe zum Zeitpunkt 6 Stunden mit einer Wahrscheinlichkeit $p < 0.05$ sichern. Zum Zeitpunkt 12 Stunden ist der Unterschied nicht signifikant.

O = Dexamethason-Behandlung
X = PHA+Dexamethason-Behandlung

Zusammenfassung.

Die Reaktion der Blutlymphozyten und das Verhalten der Esterase positiven und der Esterase negativen Lymphozyten der Ratte wurde unter dem Einfluß der Glukokortikoide und des Phytohämagglutinin untersucht. Es konnte dabei statistisch gesichert werden, daß

- a) äquivalente Dosen von Dexamethason und Prednisolon einen gleichen lymphopenischen Effekt haben.
- b) die Glukokortikoide die Esterase negativen Lymphozyten stärker beeinflussen als die Esterase positiven Lymphozyten.
- c) Phytohämagglutinin einen vorübergehenden Abfall der Blutlymphozyten und einen Wiederanstieg verursacht, der nach 36 Stunden ein Maximum erreicht.
- d) Phytohämagglutinin die Esterase positiven und die Esterase negativen Lymphozyten gleichsinnig beeinflußt.

Weiterhin wurde geprüft, ob eine Wechselwirkung zwischen dem Phytohämagglutinin-Effekt und dem Glukokortikoid-Effekt besteht. Es zeigte sich dabei, daß die Glukokortikocide den Lymphozytose-Effekt des Phytohämagglutinin unterdrücken können. Die Esterase positiven und die Esterase negativen Lymphozyten zeigen unter Phytohämagglutinin und Glukokortikoiden kein signifikant differentes Verhalten.

Das negative Verhalten der Lymphozyten gegenüber der PAS-Reaktion wurde weder unter Glukokortikoiden noch unter Phytohämagglutinin und auch nicht unter gemeinsamer Einwirkung beider Substanzen geändert.

Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit Bekanntem aus der Literatur diskutiert.

6. Literaturverzeichnis

- 1) HANSEN, H.G.: Die Physiologie des Lymphozytenstoffwechsels und seine Beeinflußbarkeit durch Hormone des Hypophysen-Adrenalsystems. Georg Thieme-Verlag, Stuttgart 1958.
- 2) HECKNER, F.: Polysaccharide in Blut- und Knochenmarkzellen. In: Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. 9. Freiburger Symposion. Hg.: H. Merker, Springer Verlag 408, (1962).
- 3) UNDRITZ, E.: Diskussionsbeitrag zu der Arbeit: DNS- und RNS- Synthese in mit PHA stimulierten Lymphozyten von FLIEDNER, T.H., V. KRETSCHMER, H. HILLEN und F. WENDT Schweiz. Med. Wschr. 95, 1499, (1965).
- 4) KLIMA, R.: Zur Morphologie und klinischen Pathologie der lymphatischen Reaktion. Schweiz. Med. Wschr. 91, 1165, (1961).
- 5) ELVES, M.W., J. GOUGH, J.A. CHAPMAN und M.O.G. ISRAELS: Electron microscopy studies of lymphocytes. Lancet I, 306, (1964).
- 6) HIRSCHHORN, K. und R. Hirschhorn: Role of lysosomes in the lymphocyte response. Lancet I, 1046, (1965).
- 7) WOLMAN, M.: Lipides. In: Handbuch der Histochemie Bd. V/2, Gustav Fischer Verlag Stuttgart 1964.
- 8) PEARSON, O.H., L.P. ELIEL, R.W. RAWSON, K. DOBRINER und C.P. RHOADS: ACTH and cortisone-induced regression of lymphoid tumors in man. A preliminary report. Cancer 2, 943, (1949).
- 9) DAGUILLARD, F. und M. Richter: Cells involved in the immune response. J.exper.Med. 130, 1187, (1969) und 131, 119, (1970).

- 10) BERGEL, S. Zur Morphologie und Funktion der Lymphozyten.
Arch. exp. Zellforschung 3, 23, (1927).
- 11) YOFFEY, J.M.: The present status of the lymphocyte problem.
Lancet I, (1962).
- 12) WEBER, W.F., P.C. NOWELL: Studies on long-lived small
lymphocytes in the rhesus monkey and some other mammals. RES.
J. Reticuloendothel. 326, (1965).
- 13) CRAFTS, R.C.: The effect of endocrines on the formed
elements of the blood. 1. The effect of Hypophysectomie,
Thyreoidectomie and Adrenalectomie on the blood of the
adult female rat. Endocrin. 29, 596, (1941).
- 14) DENT, P.B. and R.A. GOOD: Absence of antibody production
in the Bursa of Fabricius. Nature (London) 207, 491, (1965).
- 15) WAKSMAN, B.H., B.G. ARNASON and D.D. JANKOVIC: Role of
Thymus in immune reactions in rats III. Changes in the
lymphoid organs of thymectomized rats.
J. exp. Med. 116, 187, (1962).
- 16) FANCONI, G. und W. HITZIG: Pathologie der Immunität.
Lehrbuch der Pädiatrie, FANCONI, 448, (1967).
- 17) SKORTMAN, K., HASKILL, J.S., A. SZENBERY and D.G. LEGGE:
Density distribution analysis of lymphocyte populations.
Nature 216, 1227, (1967).
- 18) RAIDT, D.J., R.J. MISCHER and R.W. DUTTON: Cellular events
in the immune response. Analysis and in vitro response of
mouse spleen cell populations separated by different
flotation in albumin gradients. J. exp. Med. 128, 681,
(1968).
- 19) SINGHAL, S.K. and M. RICHTER: Cells involved in the immune
response IV. The response of normal and immune rabbit bone
marrow and lymphoid tissue lymphocytes to antigens in vitro.
J. exp. Med. 128, 1099, (1968).

- 20) DAGUILLARD, F. and G. EDSALL: The agglutination and bacterial activity of IgM and IgG antibodies to the 9 and 12 factor of salmonella typhi 0901. J. imm. 100, 1112, (1968).
- 21) GRUNDMANN, E.: Zur Morphologie der Lymphocyten. Schw. Med. Wschr. 91, 1186, (1961).
- 22) GRUNDMANN, E.: Die Bildung des Lymphocyten und der Plasmazelle im lymphatischen Gewebe der Ratte. Beitr.zur path. Anat. 119, 217, (1958).
- 23) GRUNDMANN, E.: Neuere Befunde über Entstehung und Bedeutung der Lymphocyten. Dtsch. med. Wschr. 85, 741, (1960).
- 24) LÖFFLER, H.: Cytochemischer Nachweis von unspezifischer Esterase im Ausstrich des Menschen. Klin.Wschr. 39, 1220, (1961).
- 25) BEGEMANN, H., J. RASTETTER und U. FINK: Zur Klassifizierung der Lymphocyten. Med. Klinik 58, 703, (1963).
- 26) BJÖRNBERG, Ö.: Cytochemical studies of glycogen content of lymphocytes in lymphatic leukemia and reaktive lymphocytosis. Acta Medica Scandinavia Vol.173, fasc. 4, (1963).
- 27) BINNES, C.: Le lymphocyte. Problèmes d'actualité, Extrait du Bulletin de L'Association des Anatomistes XIVIII^e Reunion (Toulouse, 15.-19. avril 1962).
- 28) SCHERZER, A.L., H.A. AZAR, G. NAYOHS and J. WILLIAMS: Endocrine control of the thymus and other lymphoid organs. Arch.Path. 76, 647, (1963).
- 29) MAXIMOW, A.: Der Lymphozyt als gemeinsame Stammzelle der verschiedenen Blutelemente in der embryonalen Entwicklung und im postfetalen Leben der Säugetiere Folia haemat. 8, 125, (1909).

- 30) QUAGLINO, D. and F.G.J. HAYHOE: Observations on the periodic acid Schiff-reaction in lymphoproliferative diseases. J. Path. Bact. 78, 521, (1959).
- 31) COWAN, W.K. and G.D. SÖRENSEN: Electron Mikroskopische Observations of acute thymic involution produced by hydrocortisone. Lab. Invest. 13, 353, (1964).
- 32) ANDREASEN, E.: The kinetics of cellular Proliferation ed. by F. Stohlman jr., Grune and Stratton, New York/London, 1959.
- 33) GASSER, G.: Der Lymphozyt beim Kinde. Schw. Med. Wschr. 91, 1169, (1961).
- 34) FICHTELIUS, K.E.: Neuere Untersuchungen zum Verständnis der Lymphozytenfunktion. Schw. Med. Wschr. 91, 1181, (1961).
- 35) FISCHER, R. und A. GROPP: Cytochemie des Lymphozyten in vitro. Klin. Wschr. 44, (1966).
- 36) FLEISCHHACKER, H. und A. STACHER: Reaktion der Blutlymphozyten. Med. Klinik 59, 382, (1964).
- 37) EHRLICH, P. und A. LAZARIUS: Spez.Path. und Therapie. Vol. III Vienna, 1889, (ed.by Nothnagel).
- 38) GRUNDMANN, E.: Der morphologische Nachweis von zwei Lymphozytensystemen beim Menschen. Klin. Wschr. 37, 66, (1959).
- 39) ADDISON, T.: The constitutionel and local effects of diseases of the supronal capsules. London, S. Highley, 1855.
- 40) DOUGHERTY, T.F. and J.G.WHITE: Effect of pituitary adrenotropic hormone on lymphoid tissue. Proc. soc. Exper. Biol. and Med. 53, 132, (1943).

- 41) BEICKERT, A.: Die Glukokortikoidtherapie innerer Erkrankungen. Gustav Fischer- Verlag, Stuttgart, 1964, S. 151.
- 42) LÖFFLER, H.: Hinweise zur Unterscheidung unreifzelliger Leukämien mit zytochemischen Methoden.
Dtsch. Med. Wschr., 88, 1531, (1963).
- 43) ROSIN, A. and M. RACHMILEWITZ: Studies on bone marrow in vitro III. The Effect of Anorexia and Hyperoxia on explantes Bone Marrow. Blood 3, 165, (1948).
- 44) MURPHY, J.D. and E. STURM: The effect of adrenal cortical and pituitary adrenotropic hormones on transplanted leukemia in rats. Science 99, 303, (1944).
- 45) MILLER, J.J. and J. COLE: Resistance of long lived lymphocytes and plasma cells in rat lymph nodes to treatment with prednisone, cyclophosphamid, mercaptopurine and actinomycin D. J. exptl. Med. 126, 109, (1967).
- 46) DOUGHERTY, T.F. and J.G. WHITE: Influence of hormones on lymphoid tissue structure and function. The role of the pituitary adrenotropic hormone in the regulation of the blood. Endocrin. 35, 1, (1944).
- 47) FRENKEL, K. and HAVERKILL M.A.: The corticoid sensitivity of golden hamsters, rats and mice. Effects of dose, time and route of administration.
Lab. invest. 12, 1204, (1963).
- 48) VAN HAELEST: Light and electron microscopic study of the normal and pathological thymus of the rat.
Zschr. f. Zellforschung 80, 153, (1967).
- 49) BYRD, W.J., W.H. FINLEY, S.C. FINLEY, S. MC CLURE: Antigenic properties of mitogenic factor in PHA.
Lancet II, 420, (1964).
- 50) LUNDIN, M. and U. SCHELIN: The effect of steroid on histology and ultrastructure of lymphoid tissue. Acute thymic involution. Path. Europea 1, 15, (1966).

- 51) KAISER, H.: Cortisonderivate in Klinik und Praxis.
Georg Thieme-Verlag, Stuttgart. 5. Auflage (1968).
- 52) KOLODNY, R.L. and HIRSCHHORN, K.: Properties of PHA.
Nature (London) 201, 715, (1964).
- 53) COHRS, P., R. JAFFE und H. MEESEN: Pathologie der
Labortiere. Band 1 und 2, Springer-Verlag Heidelberg, 1958.
- 54) YOFFEY, J.M. Ciba Foundation: Symposion on haemopoiesis.
Cell production and its regulation. London 43, (1960).
- 55) ASTRALDI, G.: Das PHA und das Problem der Lymphozyten.
Med.Klinik 10, 368, (1964).
- 56) BJÖRNBERG, Ö.: Cytochemical studies of glycogen content
of lymphocytes in lymphatic leucaemia and reactive
Lymphadenosis. Acta Med. scand. 173, 4, (1963).
- 57) LÖFFLER, H. und H. PRALLE: Zur Therapie der unreifzelligen
Leukosen. Therapie Woche 21, 1261, (1971).
- 58) DOUGHERTY T.F. and A. WHITE: Influence of adrenal cortical
secretion on blood elements. Science 98, 367, (1943).
- 59) WHITE, A. and T.F. DOUGHERTY: Effect of prolonged stimula-
tion of adrenal cortex and of adrenalectomy on number of
circulating erythrocytes and lymphocytes.
Endocrin. 36, 16, (1945).
- 60) LEDER, L.D.: Fermentcytochemische Untersuchungen zur
Herkunft des Blutmonozyten. Klin.Wschr. 44, 25, (1968).
- 61) LENNERT, K., H. LÖFFLER und L.D. LEDER: In: Zyto-Histo-
chemie in der Hämatologie. Springer-Verlag, Heidelberg, 1963.
- 62) WEBER, E.: Grundriß der biologischen Statistik.
6. Auflage, Gustav Fischer-Verlag, Stuttgart, 1967.
- 63) SACHS: Statistische Auswertungsmethoden, 2. Auflage
Springer-Verlag, Heidelberg, 1969.

- 64) CAVALLI-SFORZA: Biometrie. Grundzüge biologisch-medizinischer Statistik. Gustav Fischer-Verlag Stuttgart, 2. Auflage (1969).
- 65) LÖFFLER, H.: Unspezifische Esterasen und saure Phosphatase bei Plasmozytomen. Blut 15, 330, (1967).
- 66) LÖFFLER, H. und J.C.F. SCHUBERT: Zum histochemischen Nachweis der Esterasen in Zellen des Blutes. Klin. Wschr. 37, 563, (1959).
- 67) LÖFFLER, H.: Kombinationsmöglichkeiten der Nachweismethoden für hydrolytische Enzyme mit der Azofarbstoffmethode. Histochemie 2, 23, (1960).
- 68) MÄRKI, H.H.: Zur Regulierung der Lymphozytenzahl im Blut. Schweiz. Med. Wschr. 40, 1, (1958).
- 69) CRAIG, A.B., C.WATERHOUSE and L.E. YOUNG: Autoimmune Hemolytic Disease and Cryoglobulinemia associated with Chronic lymphatic leukemia. Amer. J. Med. 13, 793, (1952).
- 70) LUNDIN, P.M.: Anterior pituitary gland and lymphoid tissue growth. Acta endocrin. Suppl. 40, 1, (1958).
- 71) LÖFFLER, H.: Zur Differenzierung (akuter) unreifzelliger Leukämien mit zytochemischen Methoden. Folia haemat. N.F.(Frankfurt) 8, 112, (1963).
- 72) ALT, H.L., C.P. ROBBINS and C.A.D. COOPER: Effect of corticotropin on mitosis in the rat bone marrow, spleen and thymus. Rev. belg. Path. 24, 334, (1955).
- 73) GRUNDMANN, E.: Beitr. path. Anatomie 119, 377, (1956).
- 74) RUCH, J.V.: Etude de l'action in vitro du phosphate de dexaméthasone sur la synthèse préprophasique d`DNA. C. R.Soc. Biol. Paris 160/2, 2443, (1966).
- 75) LANG, R.F.: Autoradiographic study of the effects of cortisol on DNA synthesis in lymphatic tissue. Nature 216, 934, (1967).

- 76) AMARAL, L.: The effect of cortisone on synthesis of DNA in mouse liver parenchyma cells. J. Cell. Biol. 35, 159, (1967).
- 77) TORMEY, D.C., H.H. FUDENBERG und R.M. KAMIN: Effect of prednisolone on synthesis of DNA and RNA by human lymphocytes in vitro. Nature 213, 281, (1967).
- 78) STEVENS, W., C. COLLISIDES and T.F. DOUGHERTY: A time study on the effect of cortisol on the incorporation of thymidine 2-C¹⁴ into nucleic acids of mouse lymphatic tissues. Endocrin. 78, 600, (1966).
- 79) WATSON, E.D. and S.Y. YU: In vitro effect of cortisol on mitotic indices of leukocytes from whole blood. Enhanced destruction of newly synthesized RNA. Fed. Proc. 27, 669, (1968).
- 80) SUTHERLAND, E.W. III and R.J. HAYNES jr.: Metabolism of DNA in rat thymus on early response to cortisol. Endocrin. 80, 297, (1967).
- 81) MAKMA, M.H., B. DVORKIN and A. WHITE: Influence of cortisol on the utilisation of precursors of nucleic acids and proteins by lymphoid cells in vitro. J. Biol. Chem. 243, 1485, (1968).
- 82) HOTCHKISS, R.D.: A microchemical relation resulting in the staining of polisaccharide structures on fixed tissue preparations. Arch. Biochem. 16, 131, (1948).
- 83) MORITA, Y. and A. MUNCK: Effect of glucocorticoids in vivo and in vitro on net glucose uptake and amino acid incorporation by rat-thymus cells. Biochim. Biophys. Acta 93, 150, (1964).
- 84) SUTHERLAND, E.W. III and R.C. HAYNES jr.: Increased release of amino acids from rat thymus after cortison administration. Endocrin 80, 288, (1967).
- 85) HOLLANDER, V.P., C. GORDON and N. HOLLANDER: Effects of corticoid and of adrenalectomy on in vitro amino-acid incorporation into microsomes of P 1798 Lymphosarcoma. Nature 213, 1036, (1967).

- 86) KUMMER, D. und H.D. OCHS: Cytostatischer wirkungsmechanismus von Cortisol und verwandten Steroiden. Zschr. Ges. exp. Med. 147, 291, (1968).
- 87) BEICKERT, A.: Die Glukokorticoidtherapie innerer Erkrankungen. VEB Gustav Fischer-Verlag Jena, 1964.
- 88) MACHANDO, E.: Structural alterations after in vivo administration of PHA. Nature 218, 268, (1968).
- 89) BISHUN, N.P., W.R.M. MORTON and B. MC LAVERTY: Increase in the mitotic rate of bone marrow cells has been found in young rats after PHA-administration. Exoerimenta 21, 527, (1965).
- 90) GAMBLE, CH.N.: The effects of PHA on mouse spleen cells in vivo. Blood 28, 175, (1966).
- 91) ELVES, M.W., S. ROATH, M.C.G. ISRAELS: Effect of PHA in vivo in rats. Nature 198, 494, (1963).
- 92) NOWELL, P.C.: An initiator of mitosis in cultures of normal lymphocytes. Cancer Res. 20, 462, (1960).
- 93) ELVES, M.W. and J.F. WILKINSON: The effect of PHA on normal and leukaemic leukocytes when cultured in vitro. Exp. Cell Res. 30, 200, (1963).
- 94) MAC KINNEY, Y.A.jr., F. STOHLMAN jr., und G. BECHER: The kinetics of cell proliferation in cultures of human peripheral blood. Blood 19, 349, (1962).
- 95) CARSTAIRS, C.: The human smalllymphocyte: Its possible pluripotential quality. The Lancet I, 829, (1962).
- 96) BERMAN, L. and STULBERG, C.S.: Primary cultures of macrophages from normal human peripheral blood. Lab. Invest. 11, 1322, (1962).
- 97) METCALF, W.K. and D.G. OSMOND: Radioautographic investigation of the identity of PHA responsive cells in the lymphoid tissues of the rat. Exp. Cell Res. 41 669, (1966).

- 98) WILMS, K. und W. WILKMANN: Enzymatische Untersuchungen der DNA-Synthese in PHA-stimulierten Lymphozytenkulturen. Klin. Wschr. 47, 39, (1969).
- 99) GROPP, A. und R. FISCHER: Ergebnisse der Züchtung von Lymphocyten in vitro. Klin.Wschr. 44, 665, (1966).
- 100) ELVES, M.W., J. GOUGH and M.C.G. ISRAELS: Place of the lymphocyte in the RES: a study of the in vitro effect of prednisolone on lymphocytes. Acta haemat. 32, 100, (1964).
- 101) MONJARDINO, J.P.V. and A.J. MACGILLIVRAY: RNA-and histone metabolism in small lymphocytes stimulated by PHA. Exp. Cell Res. 60, 1, (1970).
- 102) COOPER, H.L. and A.D. RUEIN: RNA metabolism in lymphocytes stimulated by PHA. Blood 25, 1014, (1965).
- 103) TAKATA, T., L.B. EPSSTEIN, G. BRECHER und F. STOCHLMAN jr.: Transformation of lymphocytes in cultures of human peripheral blood. Blood 22, 614, (1963).
- 104) HIRSCHHORN, K., N. KOLODNY, R.L. BACH, J.L. FIRSCHEIN und N. HASHEM: Immune response and mitosis of human peripheral blood lymphocytes in vitro. Science 142, 1185, (1963).
- 105) HAREMANN, K. und M. SCHMIDT: Lymphocytenkulturen bei Hodgkin-Erkrankung. Hinweise für 2 Lymphocytenkulturen mit unterschiedlicher Reaktion auf PHA. Klin. Wschr. 46, 31, (1968).
- 106) FLIEDNER, T.M., V. KRETSCHMER, M. HILLEN und F. WENDT: DNA- und RNA- Synthese in mit PHA stimulierten Lymphocyten. schw. Med. Wschr. 95, 1499, (1965).
- 107) DARZYNKIEWICZ, Z., L. BCLUND und N.R. RINGERTZ: Actinomycin binding of normal and PHA stimulated lymphocytes. Exp. Cell Res. 55, 120, (1969).

- 108) HIRSCHHORN, K.? R.L. KOLODNY, H. HASHEM and F. BACH:
Mitogenic action of PHA. *Lancet* 2, 305, (1963).
- 109) RABINOWSKY, Y., J.S. Mc CLUSKY, POLLY WONG and BETTY A.
WHITE: DNA-Polymerase activity of cultured normal and
leukaemic lymphocytes. Response to PHA.
Exp. Cell Res. 57, 257, (1969).
- 110) HIRSCHHORN, R., K. HIRSCHHORN and G. WEISSMAN: Appearance
of hydrolase rich granules in human lymphocytes induced
by PHA and antigens. *Blood* 30, 84, (1967).
- 111) HIRSCHHORN, R., J.M. KAPLAN, A.F. GOLDBERG, K. HIRSCHHORN
and G. WEISSMAN: Acid phosphatase rich granules in human
lymphocytes induced by PHA. *Science* 147, 55, (1965).
- 112) BLOOM, A.D., M. TSUCHIOKA and T. WAJIMA: Lactic dehydro-
genase and metabolism of leukocytes in vitro.
Science 156, 979, (1967).
- 113) GOUGH, H. and ELVES, M.W.: Studies of lymphocytes and
their derivate cells in vitro. II Enzymes Cytochemistry.
Acta haematol. 37, 42, (1967).
- 114) NADLER, H.L., R.M. DOWN and D.Y.Y. HSIA: Enzyme changes
and polyribosome profiles in PHA stimulated lymphocyte.
Blood 34, 53, (1969).
- 115) GRAVES, M.F., J.M. ROITT: Effect of bursectomy and
thymectomy on the responses of chicken peripheral blood
lymphocytes to PHA. *Nature* 220, 293, (1968).
- 116) AMARAL, L. and S. WERTHAMER: Protein and RNA-Synthesis
in human leucocytes and lymphocytes. The effect of corti-
sol on the degradation of newly synthesized lymphocyte RNA.
Life sci. 9, 661, (1970).

- 117) COFFREY, R.W., W.O. RIEKE and N.B. EVERETT:
Radioautographic studies of small lymphocytes in the
thoracic duct of the rat. *Acta haemat. Basel* 28, 145, (1962).
- 118) SCHWARZ, M.R. and W.O. RIEKE: The effect of PHA on rat
thymus cells in vitro. *Anat.Rec.* 155, 493, (1966).
- 119) COOPER, E.H., P. BARKHAN and A.J. HALE: Observations
of the proliferation of human leukocytes cultured with PHA.
Brit.J.Haemat. 9, 101, (1963).
- 120) PERMAN, G., R.R. LYCETTE and P.H. FITZGERALD: Tuberculin
induced mitosis in peripheral blood leukocytes.
Lancet 1, 637, (1963).
- 121) HIRSCHHORN, K., R.L.KOLODNY, N. HASHEM, F. BACH:
Mitogenic action of PHA. *Lancet* 2, 305, (1963).
- 122) HOWELL, P.C.: Inhibition of human leukocytes mitosis by
prednisolon in vitro. *Cancer Res.* 21, 1518, (1961).
- 123) TORMEY, D.C., H.H. FUDENBERG and R.M. KAMIN: Effect of
prednisolone on synthesis of DNA and RNA by human lympho-
cytes in vitro. *Nature* 213, 281 (1967).
- 124) BRINCK-JOHNSON, T. and T.F. DOUGHERTY: Studies on the
effect of cortisol and corticotropin on incorporation of
adenin- 8-C¹⁴ in the lymphatic tissue nucleic acid.
Acta endocrin. 49, 471, (1965).

Lebenslauf

Am 25. August 1943 wurde ich, Dieter Otto Ludwig Kaiser in Aschaffenburg geboren. 1950 wurde ich in Bad Dürkheim/Pfalz eingeschult. 1963 wurde mir das Zeugnis der Reife vom Neusprachlichen Gymnasium Bad Dürkheim zuerkannt. Im Sommersemester 1963 immatrikulierte ich mich an der Philosophischen Fakultät der Universität Heidelberg. Ab dem Wintersemester 1963 war ich als Student der Medizin an der Medizinischen Fakultät der Universität Mainz eingeschrieben. Nach dem Physikum immatrikulierte ich mich an die Medizinische Fakultät der Universität Giessen um. Das ärztliche Staatsexamen bestand ich im Januar 1970 an der Universität Giessen. Meine Medizinalassistentenzeit verbrachte ich an den Universitäts-Kliniken Giessen. Seit dem 1. März 1971 bin ich als wissenschaftlicher Assistent an der Medizinischen Universitätsklinik Giessen tätig.

Für die Stellung des Themas, zahlreiche fördernde Anregungen und Ratschläge bei der Abfassung dieser Arbeit danke ich Herrn Prof. Dr. med. H. Löffler.

Herrn Prof. Dr. J. Dudeck und Mitarbeitern bin ich für die Beratung bei der statistischen Auswertung zu Dank verpflichtet.

